GENETISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR MORPHOGENESE DES BASIDIOMYCETEN SCHIZOPHYLLUM COMMUNE

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Naturwissenschaften
der Abteilung für Biologie
an der Ruhr-Universität Bochum

von

FATHY SALEH

aus Kairo

Bochum 1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549615_0060

GENETISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR MORPHOGENESE DES BASIDIOMYCETEN SCHIZOPHYLLUM COMMUNE

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Naturwissenschaften
der Abteilung für Biologie
an der Ruhr-Universität Bochum

von

FATHY SALEH

aus Kairo

Bochum 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 25.September 1981
Referent: Prof. Dr. Karl Esser

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Otto Schieder

Meinem Land Ä G Y P T E N

Meinen E L T E R N
gewidmet

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Karl Esser, meinem akademischen Lehrer und Doktorvater danke ich herzlich für seine großzügige Unterstützung und für die Förderung meiner Arbeit in allen Bereichen.

Mein besonderer Dank gilt neben Frau E. Walachowski und Frau E. Tepper für die Bereitung von Nährböden auch Herrn H.-J. Rathke für zahlreiche Hilfen bei der Anfertigung von Abbildungen.

Ferner sei mein Dank allen anderen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Allgemeine Botanik ausgesprochen.

Herrn Dr. F. Meinhardt bin ich für wertvolle Diskussionen in besonderem Maße verpflichtet. Den Herren Priv. Doz. Dr. U. Stahl, Dr. P. Tudzynski, W. Minuth und U. Kück danke ich für ihre Diskussionsbereitschaft und für manche Kritik.

Der Deutsche Akademische Austauschdienst (DAAD) ermöglichte durch ein Stipendium erst die Anfertigung dieser Arbeit. Für die Vermittlung dieses Stipendiums gilt mein Dank auch der Regierung meines Heimatlandes Ägypten.

GENETISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR MORPHOGENESE
DES BASIDIOMYCETEN SCHIZOPHYLLUM COMMUNE

INHALTSVERZEICHNIS

A EINFÜHRUNG 1

I Grundlagen für morphogenetische Untersuchungen ... 2
II Steuerung der sexuellen Fortpflanzung bei den höheren Basidiomyceten 4
III Kontrolle der Fruchtkörperbildung bei den echten Pilzen (Eumyceten) 8

1. Ascomyceten 8
2. Basidiomyceten 11

IV Monokaryotisches Fruchten bei höheren Basidiomyceten 13

1. Das Auftreten des Phänomens in der Natur 13
2. Induktion der monokaryotischen Fruchtkörperbildung 16

B PROBLEMSTELLUNG 19

C MATERIAL UND METHODEN 22

I Untersuchungsobjekt 22
II Anzuchtmethoden 27
III Genetische Methoden 28
IV Zytologische Methoden 3o
V Statistische Methoden 31

D ERGEBNISSE 32

I Genetik der Fruchtkörperbildung 32

1. Monokaryotisches Fruchten 32

a. Auslösung der monokaryotischen Fruchtkörperbildung 32

b. Unterdrückung des monokaryotischen Fruchtens 47
c. Dunkle Fruchtkörper 55
2. Dikaryotisches Fruchten 59

II Myzel Morphologie 62
III Zytologische Untersuchungen 66

E DISKUSSION 7o

F ZUSAMMENFASSUNG 83

G LITERATURÜBERSICHT

H ANHANG

I Veröffentlichungen
II Lebenslauf

A. EINFÜHRUNG

Die Voraussetzung für die Existenz des Lebens in seiner heutigen Form überhaupt sind die Zelldifferenzierung bzw. die Morphogenese. Die beiden synonymen Ausdrücke sind allerdings nicht auf die höheren Eukaryonten zu beschränken, sondern auch bei den niederen Eukaryonten verbreitet, deshalb können die Ergebnisse solcher morphogenetischer Untersuchungen von Mikroorganismen auch auf andere Eukaryonten angewendet werden. Die Pilze und vor allem die Ascomyceten und die höheren Basidiomyceten werden als ein idealer Kompromiß für solche Untersuchungen an höheren Organismen angesehen, da bei ihnen Differenzierungen ablaufen, die relativ leicht überschaubar sind. Bei diesen Pilzen ist die Fruchtkörperbildung ein Differenzierungsprozeß, der von ursprünglich undifferenzierten Hyphenzellen ausgeht.

Die echten Pilze (Eumycetes) bieten darüber hinaus folgende Vorteile für morphogenetische Untersuchungen:

- Regelmäßiges Auftreten von haploiden und diploiden Phasen.
- Die Generationsdauer ist sehr kurz.
- Eine Tetradenanalyse ist bei den meisten möglich.
- Die Kulturbedingungen sind jederzeit kontrollierbar.
- Ohne Schwierigkeiten kann die Kultur in Massen erfolgen.

(Esser und Kuenen, 1967; Burnett, 1975; Esser, 1977; Fincham, et al. 1979).

Für morphogenetische Untersuchungen hat es sich als zweckmäßig erwiesen, die vielfältigen Phasen der Fruchtkörperbildung voneinander zu trennen, um verschiedene, beteiligte Faktoren der morphogenetischen Differenzierung zu erfassen, die Einteilung in Stadien ist aber von untergeordneter Bedeutung und häufig subjektiv und künstlich.

I. Grundlagen für morphogenetische Untersuchungen

Für morphogenetische Untersuchungen ist es in erster Linie notwendig, das Fortpflanzungsverhalten eines Organismus zu kennen, da nur dann Versuche mit diesem durchgeführt werden können. Dieses Thema wird im Folgenden allgemein und kurz erläutert;

Die Fortpflanzung eines Organismus kann bezeichnet werden als eine Fähigkeit die erbliche Substanz zu replizieren und auf die Nachkommen weiter zu übertragen, damit die Art vor dem Tod erhalten werden kann.

> Über Fortpflanzungssysteme kann in folgenden Monographien und Übersichtsarbeiten nachgelesen werden: Raper und Esser, 1964; Esser und Raper 1965; Raper 1966; Esser und Kuenen 1967; Esser und Blaich 1973; Esser 1976.

Die vegetative Fortpflanzung besteht im einfachsten Falle in einer mitotischen Teilung. Bei Pilzen können z. B. einzelne Hyphensegmente zu selbständigen Individuen heranwachsen, dies kann bei Basidiomyceten sowohl in der monokaryotischen (haploiden) als auch in dikaryotischen Phase erfolgen.

Unter der sexuellen Fortpflanzung versteht man prinzipiell das Treffen zweier Kreuzungspartner: dem Verschmelzen ihrer Zellen (Plasmogamie), folgt unmittelbar eine Verschmelzung der Kerne (Karyogamie) und anschließend die Meiose. Durch die Meiose erfolgt die Neukombination von genetischem Material.

> Die Neukombination ist neben der Mutation und der Selektion einer der drei wesentlichen Prozesse, die die Evolution eines Organismus beeinflussen. Die Neukombination von genetischem Material ist jedoch nicht unbedingt an einen Sexualzyklus gebunden, sondern tritt auch im Verlauf parasexueller Vorgänge auf. Eine besondere Bedeutung erlangt die Parasexualität bei solchen Organismen, die sich nicht sexuell fortpflanzen (z. B. Fungi imperfecti). Hier sind parasexuelle Vorgänge die einzige Möglichkeit, das genetische Material zu rekombinieren (Esser, 1971; 1974).
> Bei einem parasexuellen Zyklus erfolgt nach zufälliger Karyogamie eine Neukombination des genetischen Materials. Anschließende zufällige Herabregulation im Verlaufe von Mitosen ergibt haploide Rekombinanten. (Nähere Informationen über den parasexuellen Zyklus bei Pontecorvo, 1956; Käfer, 1961; Roper, 1966)

Bei den höheren Pilzen und besonders bei den Basidiomyceten erfolgt die Karyogamie und Meiose in Fruchtkörpern; die Bildung der Fruchtkörper war daher nach vorherrschender Meinung -

als Ausdruck der sexuellen Fortpflanzung - auf das Dikaryon beschränkt.

Das Auftauchen von Fruchtkörpern an Myzelien mit einkernigen Hyphensegmenten (monokaryotisches Fruchten) wurde als Ausnahme und Rarität angesehen (Raper, 1966), jedoch ist nach neueren Untersuchungen das monokaryotische Fruchten wohl ein für die höheren Basidiomyceten nahezu universell zutreffendes Phänomen. (Stahl, 1975; Stahl und Esser, 1976; Meinhardt, 1980)

II. Steuerung der sexuellen Fortpflanzung bei den höheren Basidiomyceten

Die sexuelle Fortpflanzung ist - wie erwähnt - die alternierende Aufeinanderfolge von Karyogamie und Meiose. Bei den meisten höheren Basidiomyceten wird die sexuelle Fortpflanzung durch Incompatibilitätsfaktoren gesteuert.

Incompatibilität ist allgemein definiert als eine genetische Hemmung der Karyogamie, die nicht durch Sterilidefekte bewirt wird (Esser, 1961). Man unterscheidet zwei grundlegende Mechanismen:

1) Homogenische Incompatibilität:
   die Karyogamie wird verhindert, wenn die Kreuzungspartner gleiche Allele bestimmter Gene tragen.
2) Heterogenische Incompatibilität
   die Karyogamie wird verhindert, wenn die Kreuzungspartner genetisch verschiedene Kerne tragen.

Bei der Steuerung der sexuellen Fortpflanzung der höheren Basidiomyceten herrscht homogenische Incompatibilität vor. Im einfachsten Fall wird das Fortpflanzungsverhalten durch ein Allelenpaar (+ und - oder A_1 und A_2) kontrolliert, so z. B. bei Polyporus betulinus (Burnett und Partington 1957), Polyporus palustris (Flexer, 1965), Fomes cajanderi (Neuhauser und Gilbertson, 1971) und Sistotrema brinkmannii (Ullrich und Raper, 1974). Mann nennt dies den unifaktoriellen oder bipolaren Mechanismus der homogenischen Incompatibilität. Am meisten verbreitet ist jedoch bei den höheren Basidiomyceten ein Incompatibilitätssystem mit zwei Faktoren, A und B. (Raper und Esser, 1964; Esser und Raper, 1965; Raper, 1966; Esser und Kuenen, 1967; Esser und Blaich, 1973; Ullrich, 1977).

Ein oktapolarer Mechanismus der homogenischen Incompatibilität (A, B, C)', der zur Zeit noch nicht schlüssig nachgewiesen werden konnte, wurde von Jurand und Kemp (1973) bei Psathyrella coprobia als einzigem Beispiel beschrieben.

Die komplexe Struktur der A- und B-Faktoren

Es wurde bei S. commune nachgewiesen, daß die beiden Faktoren A und B aus jeweils zwei gekoppelten Untereinheiten α und β bestehen; dieses ist aber bisher für wenige andere Basidiomyceten nachgewiesen worden (siehe Liste in Esser und Kuenen 1967).

Durch die Neukombination dieser Untereinheiten können neue Faktorspezifitäten entstehen (Esser und Raper 1965; Raper, 1966; Koltin, 1978).

Die folgende Tabelle zeigt die Zahl der verschiedenen Incompatibilitätsloci bei S. commune, die von verschiedenen Autoren ermittelt wurden, und die daraus folgende Abschätzung der Gesamtzahl von A- und B-Faktoren in der Natur:

Incompatibilitätsfaktoren	A		B	
Untereinheiten	α	β	α	β
Gesamtzahl der α- und β-Allele (in der Natur gefunden)	9	32	9	9
Autoren	Raper et al (196o)	Stamberg und Koltin (1973 a)	Parag und Koltin (1971)	
Gesamtzahl der A- und B-Faktoren (Abschätzung)	(9 x 32) = 288		(9 x 9) = 81	

Ein solches Incompatibilitätssystem ist hinsichtlich der biologischen Wirkung stark fördernd für Fremdzucht und erklärt die große genetische Vielfalt der verschiedenen Wildisolate.

Die gesamten Vorgänge der sexuellen Morphogenese von der Plasmogamie bis zur Karyogamie und Meiose werden durch regulierende Faktoren kontrolliert, diese Faktoren sind nach (Raper und Flexer, 197o; Raper und Raper 1973) die Incompatibilitätsfaktoren. Die Vollendung der sexuellen Fortpflanzung erfolgt nur, wenn beide Incompatibilitätsfaktoren verschieden (A ≠ B ≠) sind (siehe Abb. 1)

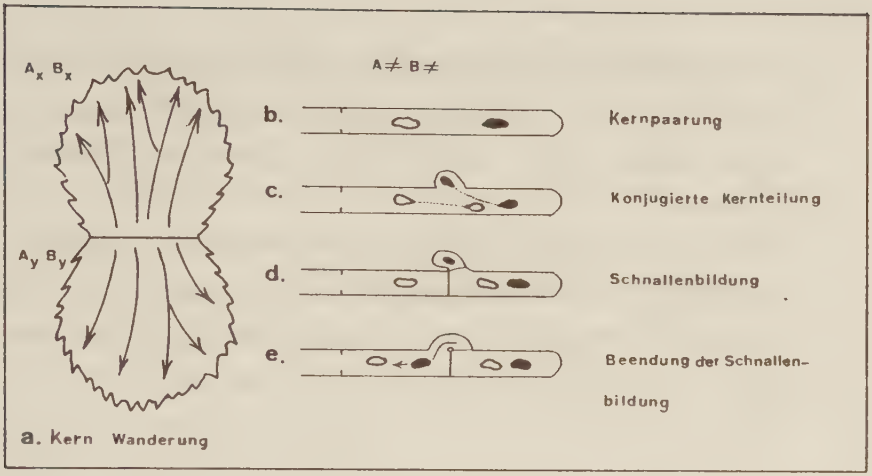


Abb.1 : Die Kontrolle der Differenzierung von Monokaryen zu Dikaryen durch die Incompatibilitätsfaktoren (A,B) bei Schizophyllum commune .(nach Raper und Raper 1973 verändert)

Die Ausbildung eines schnallentragenden Dikaryons wird unmittelbar durch die Incompatibilitätsfaktoren kontrolliert, die Fruchtkörperbildung ist nach Meinung von Raper und seiner Schule dann nur noch von Umweltfaktoren abhängig (Raper, 1966).

Der A-Faktor kontrolliert die Kernpaarung, den Beginn der Schnallenbildung, die konjugierte Kernteilung und die Wandbildung, denn in Kombinationen mit verschiedenen A-Faktoren und gleichen B-Faktoren (A ≠ B =) unterbleibt die Kernwanderung und nur in der Kontaktzone befindet sich ein heterokaryotisches Myzel mit vollständigen Schnallen; die Hyphenkompartimente der Randzonen sind in der Regel einkernig. Solche Kombinationen sind makroskopisch leicht an der entstehenden "Barrage" (Papazian, 1950) zu erkennen.
Der B-Faktor kontrolliert den Kernaustausch und die Kernwanderung, denn in Kombinationen mit verschiedenen B-Faktoren und gleichen A-Faktoren (A = B ≠) erfolgt ein Kernaustausch und

Kernwanderung, die Hyphenkompartimente enthalten verschieden viele Kerne. Diese Kombinationen sind makroskopisch daran zu erkennen, daß das Luftmyzel völlig fehlt ("flat-Phänotyp" - Papazian, 195o).
Ausführliche Darstellungen dieses Systems findet man in (Casselton, 1978; Esser, 1966; Esser und Kuenen, 1967; Esser und Raper, 1965; Raper, 1978; Raper, 1966; Raper und Esser, 1964; Schwalb und Miles,1978 ; Ullrich,1978)

III. Kontrolle der Fruchtkörperbildung bei den echten Pilzen (Eumyceten)

1. Ascomyceten:

Unter den Ascomyceten findet sich sexuelle Differenzierung nur bei den filamentösen Vertretern, nicht aber bei den Hefen. Das Interesse an dieser Gruppe von Pilzen ist schon seit langer Zeit ziemlich groß, da die perfekten Vertreter der filamentösen Ascomyceten gut entwickelte, weibliche und häufig auch männliche Sexualorgane ausbilden.
Parallel zum Fortschritt auf dem Gebiet der Pilzgenetik, insbesondere mit Neurospora, wurde eine Vielzahl von Ascomyceten hinsichtlich der genetischen Kontrolle der Morphogenese untersucht; dabei machte man zum Teil von der Möglichkeit der Tetradenanalyse Gebrauch (Esser und Kuenen, 1967; Burnett, 1975; Fincham, et al. 1979).

Nach ersten Hinweisen aus Untersuchungen an Glomerella cingulata (Edgerton, 1912, 1914; Lucas, et al. 1944; Chilton et al. 1945; Markert, 1949; 1952; Mc Gahen und Wheeler, 1951; Wheeler und Mc Gahen, 1952; Wheeler, 1954 a) haben besonders die Untersuchungen an verschiedenen Vertretern der Gattung Sordaria zum Verständnis der genetischen Kontrolle der sexuellen Differenzierung beigetragen. Die Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen an verschiedenen Sordaria-Arten führten zu fast identischen Ergebnissen (Esser und Straub, 1958; Heslot, 1958; Carr und Olive, 1959).
Die Ergebnisse der oben zitierten Untersuchungen haben gezeigt, daß eine ganze Reihe von Genen die Differenzierung der Geschlechtsorgane und Fruchtkörper kontrolliert, die im Folgenden am Beispiel von Sordaria macrospora genauer dargestellt werden. Von Esser und Straub 1958 wurde nachgewiesen, daß mindestens 15 nichtallele Gene für den Ablauf des gesamten Entwicklungszyklus bei S. macrospora verantwortlich sind. Die 15 Gene werden in der folgenden Darstellung in zwei Gruppen klassifiziert, und in Abb. 2 mit dem Entwicklungszyklus zusammengestellt.

Bei Podospora anserina bewirkt ein einziges Gen (Vacua), das auch in Einsporstämmen mit bestimmtem Kreuzungstyp (+ oder -) wirkt, den Übergang zwischen der Bildung der weiblichen Sexualorgane und der Fruchtkörperbildung (Esser und Graw, 1980).
Die Wirkung von vacua unterscheidet sich deutlich von der Wirkung vieler Gene, die nur die Ascusentwicklung nach einer Kreuzung von + und - Stämmen bei diesem Pilz beeinflussen

Gruppe I	Differenzierung der Geschlechtsorgane	5 Gene
	- Ausbildung der Ascogone	c,r
	- Weiterentwicklung zu Protoperithezien	cit, spd,
Gruppe II	Fruchtkörperbildung	1o Gene
	- Dikaryophase bis zur Ascusbildung	pl, f, l
	- Reifungsteilung und Sporenbildung	s, min, pa
	- Lineare Anordnung der Sporen	ire
	- Pigmentbildung der Sporen	lu
	- Ausschleudern der Sporen	m, n

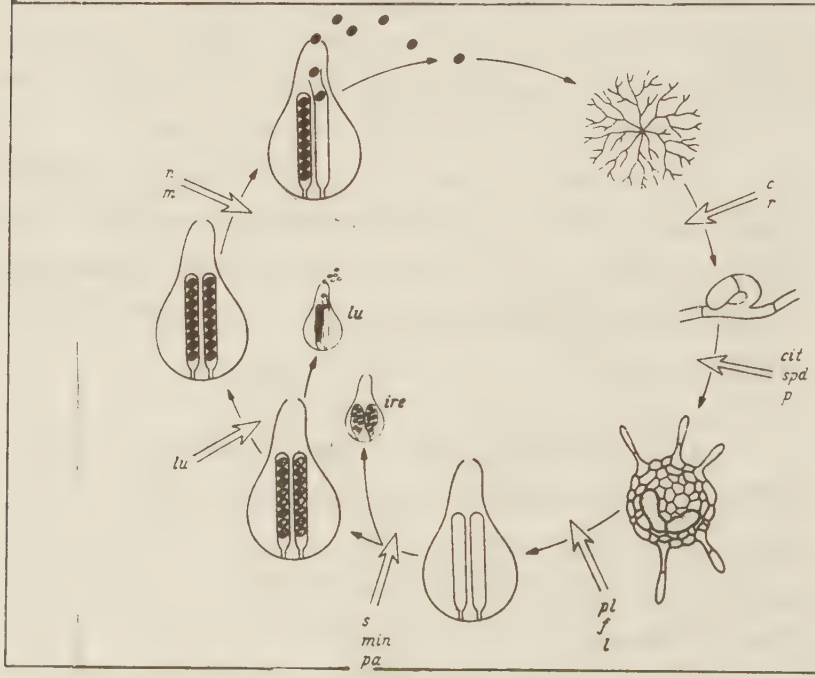


Abb. 2: Entwicklungszyklus von Sordaria macrospora durch die morphogenetische Gene

(Nach Esser und Straub, 1958 verändert)

(Simonet und Zickler, 1978), auch von den barren Stämme von Neurospora crassa mit den teilweise sterilen Perithezien (Raju und Perkins, 1978) ist es verschieden.

Schwellengene dieser Art, die den Übergang vom Myzelwachstum zum plektenchymatischen Wuchs kontrollieren, finden sich dagegen bei den höheren Basidiomyceten, wo sie den Übergang vom Myzelwachstum zum Stromawachstum bewirken, was unter anderem im Folgenden dieser Arbeit noch beschrieben wird.

2. Basidiomyceten

Innerhalb dieser Gruppe von Pilzen findet sich sexuelle Differenzierung nur bei den niederen Basidiomyceten (Heterobasidiomycetidae). Jedoch sind hier keine genetischen Daten bekannt, die eine Erklärung für die Bildung von Sexualorganen und die weitere Entwicklung zu Fruchtkörpern geben können. (nach Webster, 197o)

Bei den höheren Basidiomyceten findet eine sexuelle Differenzierung nicht statt, sie haben - wie bereits erwähnt - einen typischen, dikaryotischen Lebenszyklus, der durch homogenische Incompatibilität kontrolliert ist.

Die enormen Anstrengungen zum Verständnis der Genetik von Kreuzungsreaktionen wurden zunächst nicht auf die Genetik der Fruchtkörperbildung ausgeweitet.

> An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß bis heute nur Spekulationen über die physiologische Expression der Incompatibilitätsfaktoren angestellt werden können. (Parag, 1965b; Kuhn und Parag, 1972; Ullrich, 1978).

Auch die Beobachtungen in vielen Laboratorien, daß verschiedene Dikaryen der gleichen Art entweder fruktifizieren oder

nicht, führte nicht zu genetischen Untersuchungen der Fruchtkörperbildung innerhalb dieser Gruppe von Pilzen.
Den Anstoß zu solchen Untersuchungen gab ein eigentümliches Phänomen, das seit seiner ersten Beschreibung durch Wakefield (1909) bei S. commune in mehr als 30 Arten beobachtet wurde (siehe Liste in Stahl und Esser, 1976; Kühner, 1977; Pinto-Lopes und Almeida, 1976).
Es handelt sich dabei um das sogenannte "monokaryotische Fruchten"; das bedeutet: an einem haploiden Myzel, welches aus einer einzelnen Basidiospore entsteht, werden in einigen Fällen mehr oder weniger normale Fruchtkörper gebildet, obwohl vorher keine Plasmogamie und damit auch keine Dikaryotisierung erfolgt ist.
Wegen seiner großen Verbreitung und seiner Bedeutung soll dieses Phänomen im Folgenden näher dargestellt werden.

Die Bedeutung des monokaryotischen Fruchtens als ein haploides System für Untersuchungen von Morphogeneseschritten wurde zuerst von Stahl und Esser (1976) erkannt. Untersuchungen an Polyporus ciliatus, einem Porenpilz (Stahl, 1975; Stahl und Esser, 1976) führten zu dem Ergebnis, daß das spontane, monokaryotische Fruchten durch ein Initiatorgen (fi = fruiting initiation) ausgelöst wird, das sich phänotypisch in Stielchen mit rudimentären Hüten manifestiert; in diesen werden Basidien mit Sporen gebildet. Die weitere Ausdifferenzierung zu normal aussehenden Fruchtkörpern unterliegt der Kontrolle durch ein weiteres Gen (fb = fruit body). Unabhängig von der genetischen Ausstattung eines Monokaryons führt die Präsenz eines bestimmten Allels eines weiteren Genes

(mod = modifier) dazu, daß nur noch amorphe, stromatische Haufen gebildet werden.

Bei dem Lamellenpilz Agrocybe aegerita wird das monokaryotische Fruchten durch einen sehr ähnlichen Mechanismus kontrolliert (Esser und Meinhardt, 1977; Meinhardt und Esser, 1981). Bei diesem Pilz bewirkt ein Gen, das in Analogie zu den Polyporus-Arbeiten, fi genannt wurde, die Ausbildung kleiner, kugeliger Primordien ohne Basidien und Sporen. Ein weiteres Gen (fb) kontrolliert die Ausdifferenzierung zu normal aussehenden Fruchtkörpern. Das monokaryotische Fruchten wird durch ein drittes Gen (su) supprimiert.
Bei A. aegerita wurde auch deutlich, daß für beide alternativen Wege der Fruchtkörperbildung (monokaryotisch und dikaryotisch) die genetische Kontrolle den gleichen Faktoren unterliegt (Meinhardt, 1980).

IV. Monokaryotisches Fruchten bei höheren Basidiomyceten

1. Das Auftreten des Phänomens in der Natur (Spontan):
Nach der Keimung einer Basidiospore entwickelt sich das monokaryotische Myzel, das aus Hyphen mit einkernigen Zellen besteht. Wenn an oben genannten Myzelien Fruchtkörper sich entwickeln, wird dieses Phänomen - wie erwähnt - als

monokaryotisches Fruchten bezeichnet. Dies wird bei verschiedenen Gattungen von höheren Basidiomyceten spontan in Laborkulturen beobachtet.

> In der Natur werden monokaryotische Fruchtkörper nicht beobachtet, da unmittelbar nach der Keimung einer Basidiospore eine Plasmogamie mit einem anderen Myzel erfolgt.

Die Beobachtungen bei verschiedenen Vertretern von Basidiomyceten ergeben folgendes Bild des Phänomens:

a) Häufigkeit des Phänomens: Sowohl bei den verschiedenen Gattungen als auch innerhalb derselben Spezies sehr unterschiedlich, z. B. bei S. commune 1,7 % (Raper und Krongelb, 1958), 31,5 % (vorliegende Arbeit), bei Sistotrema brinkmannii 27,5 %, (Ullrich, 1973), bei Polyporus ciliatus 1oo % (Hoffmann, 1978), bei P. brumalis 33,3 % (Hoffmann, 1978) und bei Agrocybe aegerita 85,7 % (Meinhardt, 198o).

b) Zeitpunkt der Bildung monokaryotischer Fruchtkörper: Im Vergleich mit den dikaryotischen Fruchtkörpern verzögert.

> Bereits von Zattler, 1924 wurde beschrieben, daß die Fruchtifikationszeit der monokaryotischen Kulturen von S. commune im Vergleich mit dikaryotischen Kulturen in der Regel doppelt so lang war. Eine derartige Verschiebung des Zeitpunktes wird von anderen Autoren auch für alle anderen, bisher untersuchten Objekte berichtet (Pinto-Lopes, 1976; Meinhardt, 198o).

c) Form der monokaryotischen Fruchtkörper: Stellt kein absolutes Merkmal bei der Untersuchung der Fruchtkörper dar. Bei Coprinus macrorhizus und Agrocybe aegerita kann man

zwischen den mono- und dikaryotischen Fruchtkörpern kaum unterscheiden (Uno und Ishikawa, 1971; Meinhardt, 1980) und auch in manchen Fällen bei S. commune (Raper und Krongelb, 1958; Leslie und Leonard, 1980), während bei Polyporus ciliatus vielgestaltige Formen auftreten (Stahl, 1975) und in einigen Untersuchungen an S. commune wurde von (Zattler, 1924; Parag, 1965a;Esser et al. 1979) beschrieben, daß die beiden Formen von mono- und dikaryotischen Fruchtkörpern verschieden sind.

d) Bildung der Basidiosporen bei monokaryotischen Fruchtkörpern: Fehlt in manchen Fällen völlig, da kein Hymenium ausgebildet wird. Es entstehen dann nur sterile Strukturen, wie z. B. bei Fomes cajandari (Neuhauser und Gilbertson, 1971) und bei F. velutipes (Ingold, 1980).
Die Anzahl der Sporen von monokaryotischen Fruchtkörpern ist auf jeden Fall immer sehr gering wie beispielsweise bei S. commune (Raper und Krongelb, 1958; Parag, 1965a), P. ciliatus (Stahl und Esser 1976) und A. aegerita (Meinhardt, 1980), da die Hymenien z. T. weniger Basidien tragen, und zum Anderen weniger Sporen pro Basidie entstehen (Smith, 1934; Stahl, 1975)

e) Keimungsrate der Sporen: Geringer als bei dikaryotischen Fruchtkörpern, die im letzten Falle meist über 90 % liegt. Z. B. bei S. commune ca. 30 % (Raper und Krongelb, 1958), ca. 50 % (vorliegende Arbeit), bei P. ciliatus ca. 50 % (Stahl, 1975), und bei A. aegerita 7 - 10 % (Meinhardt, 1980).

2. Induktion der monokaryotischen Fruchtkörperbildung

Bei einigen Stämmen von höheren Basidiomyceten kann das monokaryotische Fruchten sowohl spontan als auch als induziertes Phänomen auftreten.

Leonard und Dick (1968) beschrieben, daß das monokaryotische Fruchten bei S. commune durch den imperfekten Pilz Homodendrum cladosporiodes induziert werden kann. Die Autoren konnten die induzierenden Agentien isolieren, die FIS (Abkürzung von Fruiting Inducing Substances) genannt wurden.

Es wurde auch von Leonard und Raper (1969) nachgewiesen, daß FIS aus Fruchtkörpern von Agaricus bisporus und S. commune isoliert werden kann. Weitere Ergebnisse dieser Untersuchung zeigten, daß die Induzierbarkeit der Monokaryen von S. commune durch ein einzelnes Gen (fis^{+}) unabhängig von den Incompatibilitätsfaktoren kontrolliert wird.

Von Uno und Ishikawa (1971) wurden die Monokaryen von Coprinus macrorhizus je nach Fruchtkörperbildung drei verschiedenen Typen wie folgt zugeordnet:

1. fis^{C}-Monokaryen, die spontan ohne FIS monokaryotische Fruchtkörper bilden.
2. fis^{+}-Monokaryen, die nur mit FIS monokaryotische Fruchtkörper bilden.
3. fis^{-}-Monokaryen, die weder spontan noch mit FIS monokaryotische Fruchtkörper bilden.

Die FIS des C. macrorhizus konnten von Uno und Ishikawa (1973 a, b; 1974) als Adenosin-3$\grave{}$-monophosphat (AMP), zyklisches Adenosin-3$\grave{}$,5$\grave{}$-monophosphat (c-AMP), und ein

Protein, das mit c-AMP verbunden ist, identifiziert werden. In fis^{C}-, fis^{+}- und dikaryotischen Stämmen wurde c-AMP und die Enzyme Adenylat-Zyklase und Phosphodiesterase nachgewiesen, nicht aber in fis^{-}-Stämmen. Durch höhere Konzentrationen an Glucose oder durch Dunkelheit kann das monokaryotische Fruchten gehemmt werden. Coffein und Theophyllin wirken als Phosphodiesteraseinhibitoren ebenso Fruchtkörperinduzierend wie das c. AMP. (Uno und Ishikawa, 1973 a, b; 1974; Uno, et al., 1974; Ishikawa und Uno, 1977).

Die Wirkung des c-AMP auch bei den anderen Basidiomyceten ist bis heute nicht zu verallgemeinern, da Versuche mit S. commune negativ verliefen (Schwalb, 1974; Dubovoy und Muñoz, 1979). Es könnte angenommen werden, daß entweder die Aufnahme des c-AMP durch die Zellmembran verhindert wird, oder die genetische Ausstattung der verwendeten Monokaryen, so war, daß sie nicht in der Lage waren, auf die FIS zu reagieren.

Ebenfalls eine induzierende Wirkung auf das monokaryotische Fruchten haben die nachfolgend beschriebenen Prozesse:

- Alterung des Myzels (Raper und Krongelb, 1958)
- Verknappung an Nährstoffen (Vorderberg, 1949; Niederpruem et al., 1964)
- Kombination von Monokaryen mit incompatiblen Kreuzungstypen (z. B. $A_1 B_1 \times A_1 B_1$) (Neuhauser und Gilbertson, 1971)
- Mechanische Verletzung des Myzels (Leonard und Dick, 1973)

Die Kompliziertheit der physiologischen Vorgänge bei den genannten Prozessen, die schließlich zu einer Fruchtkörperbildung führen, erlaubt natürlich keine Rückschlüsse auf spezielle physiologische Mechanismen wie dies bei dem c-AMP möglich ist.

B PROBLEMSTELLUNG

Werden aus einem Fruchtkörper von Schizophyllum commune Sporen isoliert und läßt man diese auskeimen, so entstehen z. T. Myzelien, die monokaryotisch fruchten, aber auch Myzelien, die dieses Phänomen nicht zeigen. Diese zuerst von Wakefield (1909) an S. commune gemachte Beobachtung wurde in der Folgezeit nur wenig bearbeitet.

Aus Kniep's Untersuchungen (1920) geht lediglich hervor, daß in den Basidien dieser haploiden oder monokaryotischen Fruchtkörper wahrscheinlich nur mitotische Kernteilungen stattfinden, aber keine Meiose.

Die Ergebnisse von ersten genetischen Untersuchungen dieses Phänomens (Zattler, 1924) zeigen, daß die Fähigkeit des monokaryotischen Fruchtens genetisch determiniert sein muß, da einige seiner Ergebnisse sich mit einer 1 : 1 Aufspaltung von monokaryotischen Fruchten und Nichtfruchten erklären lassen.

Der Ablauf des sexuellen Zyklus (abwechselnde Aufeinanderfolge von Karyogamie und Meiose) ist nach diesen Untersuchungen auf die Dikaryen und deren Fruchtkörper beschränkt. Das Fortpflanzungsverhalten von S. commune wurde ebenfalls zuerst von Kniep (1920) untersucht; er stellte fest, daß das Kreuzungsverhalten durch zwei genetische Faktoren kontrolliert wird (tetrapolarer Mechanismus der homogenischen Incompatibilität).

Mit der dikaryotischen Fruchtkörperbildung befaßten sich

intensiver Raper und Krongelb (1958), sie untersuchten verschiedene dikaryotische Stämme von S. commune mit morphologisch veränderten Fruchtkörpern. Die Autoren beschrieben fünf verschiedene morphologische Phänotypen von dikaryotischer Fruchtkörperbildung, die gnarled, cauliflower, medusoid, bug's ear, coralloid genannt wurden.
Leslie und Leonard (1979 a und b), die sich ausschließlich mit der Initiation von monokaryotischen Fruchtkörpern bei S. commune befaßten, geben an, daß die Initiierungsphase des monokaryotischen Fruchtens der Kontrolle sehr vieler Gene unterliegt.

Aus den bisherigen Aussagen geht hervor, daß es einige Ansatzpunkte für das Verständnis der Genetik der Fruchtkörperbildung gibt, aber kein allgemein gültiges Modell. Die häufig sogar widersprüchlichen Angaben (Leonard, 1975; Leonard, et al., 1978; Leslie und Leonard, 1979 a und b), waren u. a. ein weiterer Grund für diese Arbeit.

> Bei S. commune werden Monokaryen beschrieben, die große Stromastrukturen ausbilden. Leonard (1975) stellt fest, daß es sich dabei um ein dominantes Merkmal handelt, während er das gleiche Merkmal (1978) als rezessiv bestimmt. Eine unterschiedliche Anzahl von Genen, die das monokaryotische Fruchten auslösen sollen, findet sich in Arbeiten von Leslie und Leonard (1979 a und b).

Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, genetische Regulationen von morphogenetischen Prozessen verstehen zu lernen, u. U. ein generelles Modell für die Fruchtkörperdifferenzierung aller höher Basidiomyceten zu erstellen.

Für die vorliegende Arbeit bot sich S. commune als Untersuchungsobjekt an, da dieser Basidiomycet bereits sehr intensiv genetisch bearbeitet wurde, und leicht unter Laborbedingungen zu kultivieren ist.

Da bei zwei nicht nahe verwandten Basidiomyceten (Polyporus ciliatus, Agrocybe aegerita) die genetische Kontrolle der Fruchtkörperbildung sehr ähnlich ist, lag es nahe zu prüfen, ob es unter den höheren Basidiomyceten so etwas wie ein allgemeines genetisches Prinzip bezüglich der Fruchtkörperbildung gibt.

Im Verlauf dieser Untersuchungen spontan auftretende morphologische Veränderungen wurden in die Analysen mit einbezogen.

Ein weiterer Punkt war die Abklärung der Entwicklungsgeschichte der monokaryotischen Basidien, es konnte bestätigt werden, daß in ihnen kein Sexualakt stattfindet.

C MATERIAL UND METHODEN

I. Untersuchungsobjekt

Man findet diesen Basidiomyceten als kleinen, ungestielten muschelförmigen Fruchtkörper von rötlich grauer Farbe, vorwiegend an abgestorbenen aber auch - als Schwächeparasit - an lebendem Holz (Essig, 1922; Moser, 1967; von ARX, 1968). Tzean und Esty (1978) beschreiben, daß er sich auch als Mykoparasit von Fremdpilzen ernähren kann.

Während in einigen Ländern Südasiens S. commune, als Speisepilz gilt (Waltung und Sweeney, 1971), bezeichnen andere diesen Pilz sogar als humanpathogen, da er z. B. von Fußnägeln des Menschen isoliert werden konnte (Cooke, 1961).
Nach (Rehm, 1980) wurde von (Tachibana und Murakami, 1973) darauf hingewiesen, daß S. commune ein guter Äpfelsäure bildner ist - und u. U. biotechnologisch interessant werden könnte.

Charakteristisch ist für S. commune, daß er einen Hut mit längsgespaltenen Lamellen hat, aus diesem Grund wird er zu den Spaltblättlingspilzen (Schizophyllaceae), einer isolierten Familie, innerhalb der Aphyllophorales gestellt. (Talbot, 1973; Jahn, 1978; Singleton und Sainsbury, 1978). Es ist einfach unter Laborbedingungen das Myzel zu kultivieren und auch die Fruchtkörperbildung auszulösen. (Wakefield, 1909; Kniep, 1920; Zattler, 1924; Papazian, 1958; Raper und Krongelb, 1958; Raper und Miles, 1958).

> Unter bestimmten Bedingungen kann die Vitalität des Fruchtkörpers sogar bis ca. 5o Jahre erhalten werden (Ainworth, 1962).

In den Fruchtkörpern entstehen als Folge sexueller Fortpflanzung die Basidiosporen. Die vegetative Fortpflanzung durch Chlamydosporen wurde von (Koltin, et al., 1973b) bei einigen wenigen Stämmen beschrieben.

> Chlamydosporen (= Mantelsporen) sind einzelne Dauerzellen, die durch Zerbrechen der Hyphen entstehen und von verdickten, häufig dunkel gefärbten Wände umgeben sind.
> (Müller und Löffler, 1971; Esser, 1976; Schlegel, 1976)

Untersuchungen von Neŝerva (1975) ergeben, daß die Bildung der Chlamydosporen durch zwei ungekoppelte Gene kontrolliert wird (Chl. 1 und Chl. 2). Das Gen (Chl-1) ist wahrscheinlich mit dem Incompatibilitätsfaktor-A locker gekoppelt, während das Gen Chl-2 nicht mit den Incompatibilitätsfaktoren gekoppelt ist.

1. Die Herkunft des Ausgangsmaterials

Für die vorliegenden Untersuchungen dienten verschiedene dikaryotische Stämme von Schizophyllum commune, die Naturisolate von verschiedenen geographischen Orten darstellen.

In Tab. 1 sind die Herkunft der Stämme und einige ihrer charakteristischen Daten zusammengefaßt. Aus der Tab. 1 ist zu ersehen, daß bei langdauernder Kultur im Labor die Fähigkeit des Fruchtens verloren geht, wie bereits von

(Zattler, 1924) erwähnt wurde. Und obwohl viele Dikaryen reichlich fruktifizieren, bleiben einige Dikaryen unter gleichen Kulturbedingungen völlig steril was bereits von (Kniep, 1929) beobachtet wurde.

Es kann aus der Tab. 1 entnommen werden, daß eine Beziehung zwischen der Häufigkeit des monokaryotischen Fruchtens und dem Zeitpunkt der Fruchtkörperbildung der Wildisolate zu beobachten ist.

Für die weitere genetische Analyse des monokaryotischen Fruchtens wurde mit dem Stamm (Re) gearbeitet, da bei diesem Stamm die Fähigkeit, monokaryotische Fruchtkörper zu bilden, am besten ausgeprägt war.

Legende zu Tab. 1: Übersicht der verwendeten S. commune Rassen mit Angabe der Herkunft, Isolationsjahr, Zeitpunkt der Fruchtkörperbildung, Kreuzungstypen und Wuchsrate.

= fertile monokaryotische Fruchtkörper.

= Stielchen-typ.

= Stroma-typ.

= Myzel-typ.

Nr.	RASSE			ZEITPUNKT (d) DER DIKARYOTISCHE FRUCHTKÖRPERBILDUNG	KREUZUNGSTYP		ANZAHL DER SPOREN	PHÄNOTYPEN DER MONOKARYEN					WUCHSRATE (mm/d, 25°C)
	SYMBOL	HERKUNFT	JAHR		A	B							
1.	Re	Recieße	1953	4 – 8	1, 2	1, 2	29	14	4	4	7	—	4,8 ± 0,14
2.	Br	Brunn	1957	Steriles Myzel									6,1 ± 0,06
3.	Ca	Cahnov	1971	17	3, 4	3, 4	58	—	—	1	57	—	5,8 ± 0,06
4.	Zv	Zviker	1974	16	5, 6	5, 6	34	—	—	26	8	—	6,6 ± 0,07
5.	Bo.1	Bochum		13	7, 8	7, 8	50	3	13	3	30	1	5,2 ± 0,06
6.	Er	Ergste bei Hagen	1976	20	7, 9	7, 8	17	—	4	9	4	—	6,2 ± 0,13
7.	Bo.2	Bochum		15	10, 11	9, 10	33	2	5	12	14	—	4,6 ± 0,04
8.	Oe.1	Oer-Erkenschwick	1977	16	12, 13	11, 12	40	—	5	8	27	—	5,8 ± 0,06
9.	Oe.2	"		13	3, 13	11, 3	30	9	6	1	14	—	5,4 ± 0,00
10.	Oe.3	"		15	14, 15	3, 13	40	—	18	12	10	—	7,3 ± 0,15
11.	Bn	Bonn		14	16, 17	14, 15	40	3	11	3	23	—	6,2 ± 0,12
12.	Ha	Haltern		14	18, 19	3, 16	38	8	9	7	14	—	5,5 ± 0,00
13.	Gn.1	Göttingen		17	20, 21	5, 2	42	—	5	4	23	10	5,9 ± 0,00
14.	Gn.2	"		16	26, 27	21, 22	24	—	—	—	24	—	6,9 ± 0,15
15.	Ly	Lyon		Steriles Myzel									5,0 ± 0,08
16.	Sw.1	Sweden		13	22, 23	17, 18	49	—	19	—	20	10	5,3 ± 0,30
17.	Sw.2	"		steriles Fruchten									5,1 ± 0,16
18.	Sl	Sauerland	1979	21 – 30	28, 29	23, 24	27	—	—	—	27	—	6,0 ± 0,00
19.	Wn	Wengen		14	24, 25	19, 20	48	—	8	—	40		5,9 ± 0,00

2. Entwicklungszyklus

Der Entwicklungszyklus von S. commune durchläuft wie bei den meisten Basidiomyceten - drei verschiedene Kernphasen und folgt damit dem Schema der Abb. 3.

a) Haplophase

Nach der Auskeimung einer Basidiospore, erfolgt die Bildung eines einkernigen Myzels, in dem jedes Hyphensegment einen haploiden Kern enthält. Aus diesem Grund wird dieser Typ vom Myzel auch als Monokaryon bezeichnet und von anderen Autoren auch als Homokaryen beschrieben, da alle Kerne in einem solchen Myzel genetisch gleich sind.
Wegen der Schnelligkeit der Fusion von monokaryotischen Myzelien miteinander gleich nach der Auskeimung, ist diese Phase in der Natur sehr kurz.

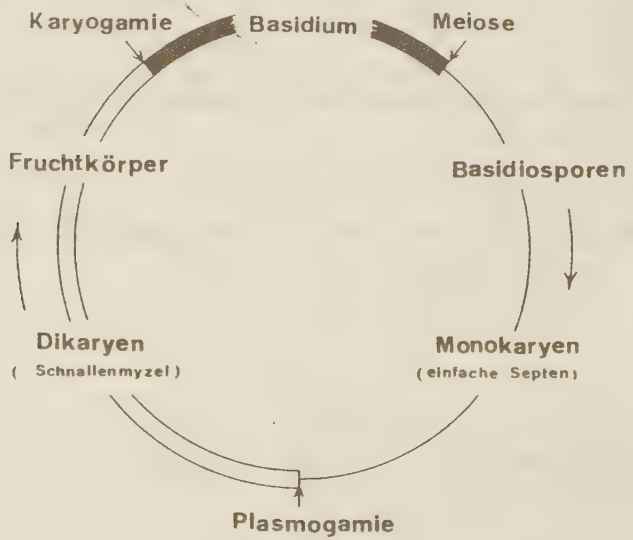


Abb. 3: Ontogenese von Schizophyllum commune
(verändert nach Koltin, et.al 1972)

b) Dikaryophase

In der Dikaryophase befinden sich zwei genetisch verschiedene Kerne in jedem Hyphensegment, es stellt somit den Spezialfall eines Heterokaryons dar. Das Überwiegen der Dikaryophase im Lebenszyklus ist charakteristisch für die höheren Basidiomyceten.
Ein dikaryotisches Myzel ist leicht auf Grund der Schnallenbildung mikroskopisch zu erkennen; durch die Schnallenbildung erfolgt eine geordnete Verteilung der beiden genetisch verschiedenen Kerne während des Wachstums (Niederpruem, et al. 1971).

c) Diplophase

Die Diplophase ist auf die jungen Basidien beschränkt und sie entsteht nach der Fusion (Karyogamie) genetisch verschiedener Kerne. Unmittelbar nach der Karyogamie erfolgt die Meiose, deren Produkte durch die Sterigmen in die Sporen wandern, diese werden schließlich abgeschnürt und vom Wind verbreitet.

II. Anzuchtmethoden

1. Nährmedien

Als Standardmedium für die Kultivierung, Haltung und Lagerung diente 3%iger Malz-Mais-Agar (Esser, et al., 1974). Auf diesem Medium wurden auch die Wachsraten der verschiedenen Isolate

bestimmt.

Für die Charakterisierung verschiedener Myzelmorphologien erwies sich ein Komplettmedium nach Raper und Hoffman (1974) als optimal.

Für die Untersuchung der Fruchtkörperbildung erwies sich Moser B. Medium (Moser, 1958) als am besten geeignet. Die Bestimmung der Kreuzungstypen erfolgte am besten auf einem Standardminimalmedium für Basidiomyceten (Raper und Krongelb, 1958).

2) Kulturbedingungen

Alle Kulturen wurden bei 25°C und Dauerlicht bis zur Ausbildung der Fruchtkörper gehalten. Die Differenzierung der dikaryotischen Fruchtkörper der Wildstämme war meist nach 17 d. abgeschlossen, in seltenen Fällen erst nach über 3o d. Die Beobachtung der Kulturen erfolgte daher niemals länger als 6o d.

Stammkulturen wurden in Schrägagarröhrchen bei 4°C gehalten. Sie können unter diesen Bedingungen ca. 12 Monate aufbewahrt werden.

III. Genetische Methoden

1. Zur Isolation der Sporen (Monokaryen)

Ein kleines Stück vom Hymenium eines reifen Fruchtkörpers wird mit der Rasierklinge ausgeschnitten und an der Innen-

fläche des Deckels einer Petrischale, die mit einer dünnen Schicht Paper's Medium gefüllt war, angeklebt (nach Kniep, 1913 modifiziert).

Nach kurzer Zeit (1-2 Minuten) werden genug Sporen auf die Agaroberfläche abgeschleudert. Man kann den Deckel verdrehen, um die gesamte Agaroberfläche zu nutzen, dann wird dieses Stück aus dem Deckel genommen. Die auskeimenden Sporen (nach 2o - 24 h) werden mit dem umgebenden Agarblöckchen mit Hilfe einer Glasnadel unter dem Binocular ausgestochen und auf neues Medium übertragen (4 Einspormyzelien pro Petrischale).

Bei geordneter Vereinzelung der Sporen, kann die Keimungsrate bestimmt werden (nach Hoffmann, 1978).

2. Incompatibilitätsteste

Die Ermittlung der Kreuzungstypen erfolgte in Petrischalen; dazu wurde der zu testende Stamm einzeln gegen die 4 Kreuzungstypen im Abstand von ca. 5 mm angeimpft. Die Auswertung erfolgt nach 3 - 4 d. mikroskopisch auf Grund der Schnallenbildung compatibler Kombinationen.

> Bei S. commune lassen sich die Kombinationen mit gleichen A-Faktor (A = B ≠) und mit gleichen B-Faktor (A ≠ B =) bereits makroskopisch unterscheiden, da entweder ein flat-Myzel oder eine Barrage entsteht. (Papazian, 195o; Raper, 1966)

IV. Zytologische Methoden

Für die Färbung der Kerne in Basidien während ihrer Teilung wurde die Eisen-Hämatoxylin, die von Lu und Raju (197o) an Coprinus lagopus, Radu, et al. (1974) und Haapala und Nienstedt (1976) an Schizophyllum commune beschrieben wurde, in etwas modifizierter Form wie folgt verwendet;

1) Fixierung

In einem Gemisch aus Äthanol, Propionsäure und Chromsäure (1o %) im Verhältnis (9 : 6 : 2) wurden die jugen Fruchtkörper mindestens 24 h fixiert.

2) Hydrolyse

Nach der Fixierung wurden die Fruchtkörper in einem Gemisch aus Äthanol und conc. HCL (1 : 1) bei 6o°C im Wasserbad für 1 - 3 Min. hydrolysiert, dann wurde dieses Gemisch sofort für 1 Min. in ein Eisbad gesetzt.

3) Waschen

In 5o%iger Propionsäure wurden die Fruchtkörper dreimal (je mindestens 1o Min.) gewaschen.

4) Färbung

Die Farblösung darf frühestens ein Tag vor der Anfärbung hergestellt werden, da diese Farblösung unbeständig ist.

Die Farblösung besteht aus einem Gemisch (1 : 1)
von 4%igem Eisenalaun ($NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$) und
2%igem Hämatoxylin in je 5o%iger Propionsäure.

Mit Hilfe einer Rasierklinge wurden Flachschnitte vom Hymenium der Fruchtkörper angefertigt und diese in einem Tropfen von Farblösung und mit einem Deckgläschen gequetscht.

5) Mikroskopierung des Präparats

Nach der Färbung wird das Plasma in den Basidien hell-rot oder hell-rot-violett angefärbt, während die Kerne dunkel-rot bis rot-violett angefärbt werden. Solche Präparate können bei 4°C bis zu 5 Wochen aufbewahrt werden.

V. Statisitsche Methoden

Um die Kopplungsbeziehungen zu bestimmen, wurde mit Hilfe des Chi^2-Testes die Häufigkeit der einzelnen Phänotypen von jeder Nachkommenschaft an Hand der bei einer Ein-, bzw. Mehrfaktorkreuzung zu erwartenden Häufigkeit verglichen, dabei war die Annahme zu Grunde gelegt, daß die beteiligten Gene zufällig verteilt und ungekoppelt sind. (Sachs, 1969)

D ERGEBNISSE

I. Genetik der Fruchtkörperbildung

1. Monokaryotisches Fruchten

a. Auslösung der monokaryotischen Fruchtkörperbildung

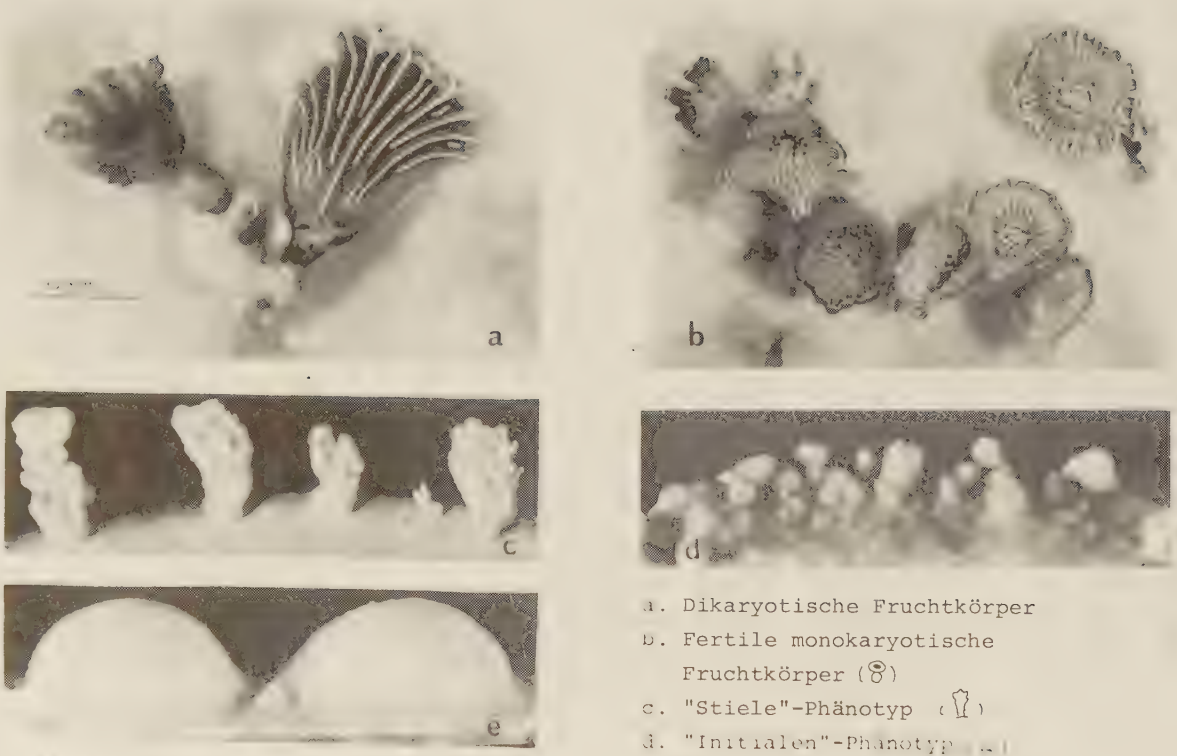
Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, findet man unter den Nachkommen der meisten Wildisolate von S. commune Monokaryen, die in der Lage sind, Fruchtkörperstrukturen auszubilden. Wird zur Charakterisierung der monokaryotischen Fruchterstrukturen nur ihr Habitus benutzt, so lassen sich vier Typen unterscheiden (siehe Abb. 4).

In Abb. 4 sind diese vier Typen dargestellt und zusätzlich noch ein Typ, der erst im Verlauf der Kreuzungsexperimente mit Stamm Re auftrat:

1) Fertile monokaryotische Fruchter (⊗). Monokaryen mit voll ausgebildeten Fruchtkörpern, die sich von den dikaryotischen Fruchtkörpern nur durch ihre Form und durch 2-sporige Basidien unterscheiden.

2) "Stiele"-Phänotyp (♗). Solche Monokaryen bilden lange Stiele, die keine Lamellen und Sporen tragen (6-8 mm hoch).

3) "Initialen"-Phänotyp (Ω). Bei diesem Typ treten kleine Primordien oder Initialen am Myzel auf. Dieser Typ spaltete bei den Kreuzungsexperimenten heraus.



a. Dikaryotische Fruchtkörper
b. Fertile monokaryotische Fruchtkörper (♀)
c. "Stiele"-Phänotyp
d. "Initialen"-Phänotyp
e. "Stroma"-Phänotyp
(verändert aus Esser, et al. 1979)

Abb.4
Die Morphogenese bei Schizophyllum commune.

4) "Stroma"-Phänotyp (Ω). Bei diesen Monokaryen treten kompakte und rundliche stromatische Haufen auf, die in ihrer Größe (Ø 2 - 15 mm) und Zahl pro Kultur variieren.

5) "Myzel-Phänotyp (✳). Diese Monokaryen bilden außer Hyphen keine morphologischen Strukturen.

Da die Außenbedingungen stets konstant waren, kann angenommen werden, daß die Monokaryen eine unterschiedliche, genetisch fixierte Fähigkeit zum Fruchten besitzen. Die Kerne des Ausgangsstammes sind demnach für dieses Merkmal heterogen.

Die immer wieder beobachtete, große Heterogenität von Wildisolaten erklärt sich durch den homogenischen Incompatibilitätsmechanismus der Inzucht stark einschränkt und Fremdzucht fördert.

Um sicherzustellen, daß es sich tatsächlich um monokaryotische Stämme handelt; wurden exemplarisch folgende Kriterien geprüft:

1) Das Myzel und auch das Plektenchym der Fruchtkörper dürfen keine Schnallen tragen.

2) Alle Sporen eines monokaryotischen Fruchtkörpers müssen den gleichen Kreuzungstyp haben, wie der Ausgangsstamm.

3) Vielsporkulturen, die von einem monokaryotischen Fruchtkörper ausgehen, dürfen kein Schnallenmyzel besitzen.

4) In der Regel sind die Basidien von monokaryotischen Fruchtkörpern zweisporig.

Zweisporigkeit allein ist kein hinreichendes Merkmal für monokaryotisches Fruchten, da einige Arten auch im Verlaufe ihrer sexuellen Fortpflanzung - also in dikaryotischen Fruchtkörpern - 2-sporige Basidien ausbilden (z. B. Agaricus bisporus).

Aus Kreuzungen zwischen zwei phänotypisch gleichen Monokaryen erhält man als Nachkommen nicht nur den Phänotyp der Eltern, wie man es erwarten könnte, sondern es tauchen alle Typen von Monokaryen auf.

Da alle Einsporkulturen aus monokaryotischen Fruchtern aber wiederum monokaryotische Fruchter sind, muß man darauf schließen, daß die Monokaryen, obwohl sie einen gleichen Phänotyp haben, genetisch verschieden sind. Für genetische Untersuchungen ist es aber notwendig, möglichst homogenes Material zu verwenden, da sich sonst wegen der Vielzahl der Gene keine klaren Aussagen machen lassen.

Aus diesem Grund wurden die verschiedenen bereits dargestellten Phänotypen über mehrere Generationen durch Inzucht selektioniert.

Tab. 2 zeigt, daß nach einigen Generationen in den meisten Fällen keine Aufspaltung mehr zu beobachten ist.

Tab. 2: Selektion verschiedener monokaryotischer Phänotypen

Nr.	Phänotypen der Kreuzungspartner			Generation	Aufspaltung nach der Selektion
1.		x		6	keine
2.		x		5	keine
3.		x		5	keine
4.		x		4	*

*Beim "Stroma"-Phänotyp war die weitere Selektion unmöglich, da die dikaryotischen Kulturen dieses Phänotyps nur "Stroma"-Strukturen und keine fertilen dikaryotischen Fruchtkörper bilden. (Symbole wie in **Abb.4**)

Die Tatsache, daß in den Kreuzungen keine Aufspaltungen mehr zu beobachten sind, läßt darauf schließen, daß die Stämme für dieses Merkmal isogen sind.
Für die nachfolgenden Kreuzungen wurden nur solche, durch Inzucht erhaltene Stämme und deren Nachkommen verwendet.

Zur Bestimmung genetischer Unterschiede zwischen den Stämmen wurden die einzelnen Phänotypen miteinander gekreuzt und aus den Aufspaltungsverhältnissen auf den Genotyp der Eltern rückgeschlossen.
Tab. 3 zeigt die Ergebnisse von 3 Kreuzungen zwischen fertilen monokaryotischen Fruchtern und dem "Sticle"-Phänotyp.

Tab. 1o: Ergebnisse von Kreuzungen monokaryotischer Stämme mit unterschiedlicher Fähigkeit zum monokaryotischen Fruchten mit "Stroma"-Monokaryen

Nr.	Phänotypen der Kreuzungspartner I		II	Anzahl der Sporen	Phänotypen der Nachkommen					Aufspaltungsverhältnisse	Genotypen der Kreuzungstypen I	II
1.		x		4o	-	-	-	18	22	1 : 1	st^+	st
2.		x		6o	-	-	12	3o	18	1 : 2 : 1	$fi_1fi_2st^+$	$fi^+fi\ st^*$
3.		x		97	-	14	21	5o	12	1:2:4:1	$fi_1fi_2st^+$	$fi_1^+fi_2^+st$
4.		x		267	18	22	68	128	31	1:1:4:8:2	$fi_1fi_2fbst^+$	$fi_1^+fi_2^+fb^+st$

Der Chi^2-Test liefert P.-Werte immer $>$ o,3

(Symbole wie in Abb.4)

* $fi^+fi\ st = fi_1^+\ fi_2st$ oder $fi_1fi_2^+\ st$

strukturen hat. Dazu wurden "Stroma"-Monokaryen mit anderen Monokaryen bekannten Genotyps gekreuzt und die Nachkommen analysiert. Tab. 1o zeigt die Ergebnisse dieser Kreuzungen.

Die Daten der Tab. 1o lassen folgende Aussagen zu:

1) In allen Kreuzungen mendeln die Merkmale, was an den Aufspaltungen zu erhalten ist.

2) Setzt man die "Stroma"-Nachkommen zu den anderen Nachkommen ins Verhältnis, so wird deutlich, daß in allen Kreuzungen ca. 5o % der Nachkommen den "Stroma"-Phänotyp haben.

3) Es wird deutlich, daß bei Vorhandensein eines aktiven des "Stroma"-Gens (st^+) in jedem Fall stromatische Strukturen gebildet werden, unabhängig von der anderen, genetischen Ausstattung der Monokaryen; d. h. st^+ wirkt epistatisch über die Gene des monokaryotischen Fruchtens.

Zum besseren Verständnis und wegen der Übersichtlichkeit werden die dargestellten Kreuzungen und die daraus resultierenden Ergebnisse und Aufspaltungsverhältnisse in der Abb. 5 zusammengefaßt und den Phänotypen jeweils die entsprechenden Genotypen zugeordnet. Für das monokaryotische Fruchten von S. commune gilt demnach: Die Auslösung des monokaryotischen Fruchtens erfolgt durch zwei gleichbe-

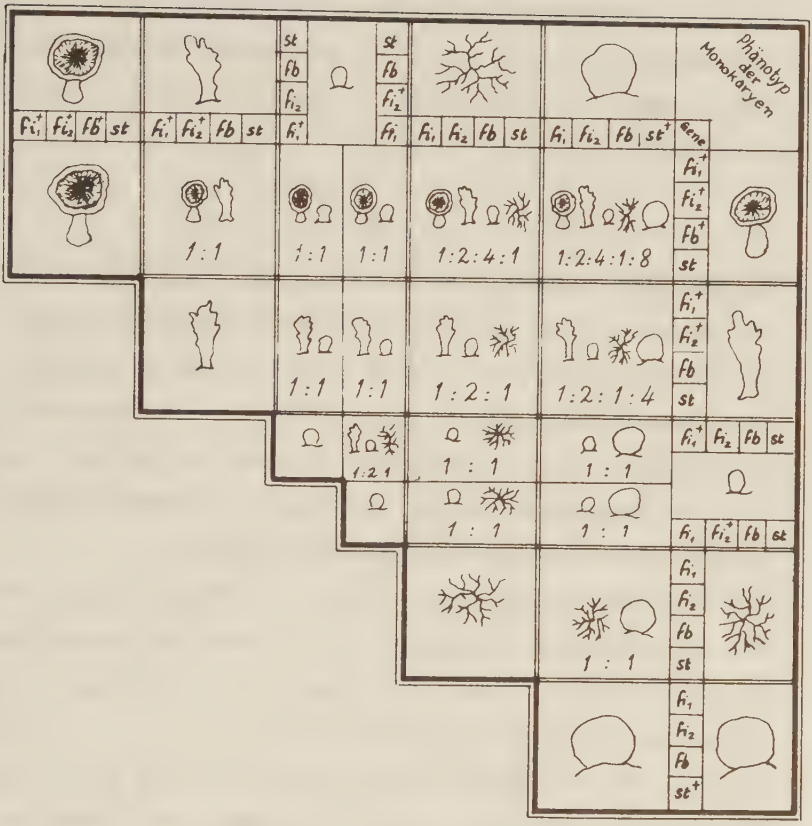


Abb. 5: Zusammenfassung der Ergebnisse der verschiedenen Kreuzungen zur Ermittlung der genetischen Kontrolle des monokaryotischen Fruchtens

(Symbole wie in Abb. 4)

rechtigte Gene (fi_1 und fi_2), diese manifestieren sich jeweils in Primordien, beide zusammen bewirken den "Stiele"-Phänotyp; die weitere Ausdifferenzierung zu fertigen Fruchtkörpern unterliegt der Kontrolle des fb-Gens. Die Ausbildung von Fruchtkörperstrukturen wird durch ein epistatisch wirksames Gen unterbunden, das phänotypisch zu großen kugeligen, stromatischen Gebilden führt.

Kopplungsbeziehungen: Zur Ermittlung der Kopplungsbeziehung der einzelnen Gene untereinander war es nötig zu prüfen, ob die Gene während der Meiose zufällig oder vorwiegend in parentaler Kombination beurteilt werden. Da jede Kreuzung die beiden Kreuzungstyp-Faktoren heteroallel besitzt, kann auch die Kopplungsbeziehung zwischen den monokaryotischen Genen und den A-B-Faktoren ermittelt werden.
Bei Zweifaktorenkreuzungen werden bei Einzelstranganalysen die vier möglichen Genotypen mit gleichen Häufigkeiten gebildet, wenn es eine Zufallsverteilung gibt. In diesem Falle müssen diese Genotypen im Verhältnis von 1 : 1 : 1 : 1 aufspalten. Für den Nachweis der Kopplung ist die statistische Abweichung (Chi^2-Rest) von der Erwartung eine notwendige Bedingung (Esser & Kuenen, 1967).
Die Frequenz der Parental- und Rekombinationstypen der Nachkommen ist gleich (Rekombinationsfrequenz p = o,5), wenn die Gene ungekoppelt sind.

Solche Verteilungen kommen generell durch zwei Möglichkeiten zustande:

- Die Gene liegen auf demselben Chromosom weit auseinander und können frei miteinander rekombinieren.
- Die beiden Gene liegen auf verschiedenen Chromosomen.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen, die in der Tab. 11 zusammengestellt sind, geht hervor, daß eine Kopplung der verschiedenen Gene für das monokaryotische Fruchten weder untereinander noch mit A, B-Incompatibilitätsfaktoren vorliegt.

Tab. 11: Ermittlung der Kopplungsbeziehungen zwischen den Genen des monokaryotischen Fruchtens und den Incompatibilitätsfaktoren A und B

Faktoren-paaren	Anzahl der Sporen	Aufspaltung				Statistische Sicherung	
		P_1	P_2	R_1	R_2	Chi^2	P-Werte
fi_1/A	8o	25	17	2o	18	1,8o	o,5 - o,7
/B	8o	18	23	22	17	1,3o	o,7 - o,8
fi_2/A	14o	37	39	3o	34	1,31	o,7 - o,8
/B	14o	32	4o	38	3o	1,94	o,5 - o,7
fb_1/A	1oo	29	24	27	2o	1,84	o,5 - o,7
/B	1oo	23	27	2o	3o	2,32	o,5 - o,7
st/A	75	22	18	2o	15	1,42	o,7
/B	75	19	21	14	21	1,74	o,5 - o,7
fi_1/fb	5o	1o	12	15	13	1,o4	o,7 - o,8
/st	6o	11	15	18	16	1,74	o,5 - o,7
fi_2/fb	4o	13	1o	8	9	1,3o	o,7 - o,8
/st	38	7	11	8	12	1,8o	o,5 - o,7
fi_1/fi_2	6o	2o	12	13	15	2,54	o,3 - o,5
fb/st	72	18	15	22	17	1,62	o,5 - o,7

(P_1, P_2 = Parentalentyp, R_1, R_2 = Rekombinationstypen)

c. Dunkle Fruchtkörper

Im Verlaufe der Experimente zur Ermittlung der genetischen Kontrolle des monokaryotischen Fruchtens trat unter den Nachkommen eines monokaryotischen Fruchters spontan ein Stamm auf, dessen Fruchtkörper sich deutlich durch die dunkle Farbe und die Form der Lamellen von den anderen monokaryotischen Fruchtern unterscheiden. Werden von einem dieser dunklen Fruchtkörper erneut Einsporkulturen angelegt, so zeigen alle resultierenden Stämme wiederum den gleichen Phänotyp, d. h. sie produzieren dunkle Fruchtkörper. Dies allein läßt schon darauf schließen, daß es sich bei diesem Phänomen um eine erbliche Änderung (Mutation) handelt.

Die Abb. 6 zeigt sowohl den wild-Phänotyp als auch den spontan aufgetretenen, dunklen Typ. Dieser neue Typ wurde wegen seiner dunklen Farbe "Aida"-Phänotyp genannt.

Die dunkle Farbe der "Aida"-Fruchtkörper könnte durch eine Störung der Regulation von Phenoloxidasen zu erklären sein, was schließlich zu einer Überproduktion an Melanin führt, das die Färbung der Fruchtkörper bewirkt. Da aber keine vergleichenden Messungen von Phenoloxidase Aktivitäten vorliegen, läßt sich hier keine klare Aussage treffen.

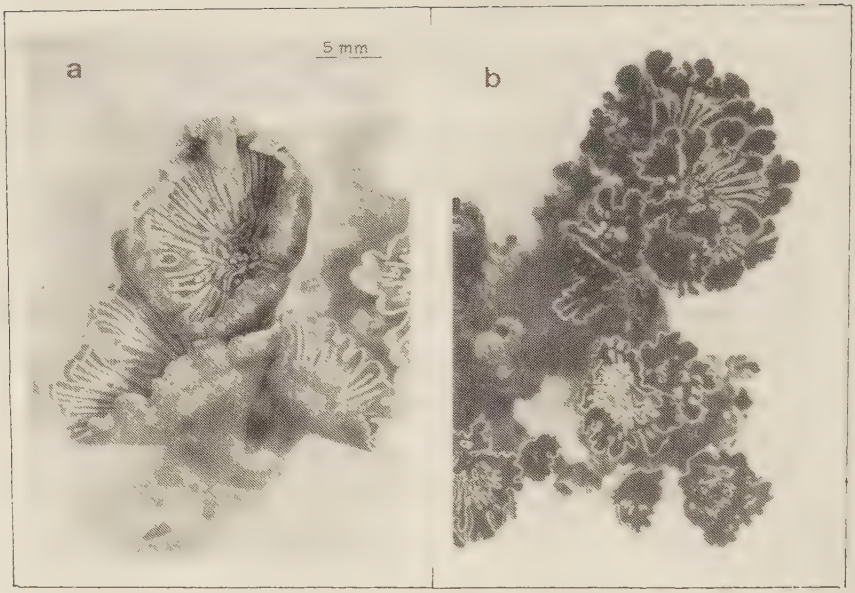


Abb. 6: Monokaryotische Fruchtkörperbildung:
a. Wild-Phänotyp (ai^+) - ⊙
b. Aida-Phänotyp (ai) - ●

In Kreuzungen zwischen monokaryotischen Fruchtern (⊙) und dem Aida-Typus (●) war stets eine 1 : 1 Aufspaltung zu beobachten (siehe Tab. 12 Nr. 1 und 2). Die Rückkreuzungen (siehe Tab. 12 Nr. 3 - 12) bestätigen, daß dieser Phänotyp durch spontane Mutation in nur einem Gen entstanden sein muß.

In Kreuzungen zwischen Wild- und Aida Typen sind die dikaryotischen Fruchtkörper vom Wildtyp, d. h. der "Aida"-Typ ist rezessiv. Deshalb wurde der Wildtyp mit (ai^+) und der "Aida"-Typ mit (ai) bezeichnet. Bei Kreuzungen zweier "Aida"-Stämme

Tab. 12: Ergebnisse von Kreuzungen zwischen Wildtyp und Aidatyp

Nr.	Phänotypen der Kreuzungspartner I-Wild	II-Aida	Anzahl der Nachkommen	Phänotypen der Nachkommen: Wildtyp	Aidatyp	Aufspaltungsverhältnisse	Genotyp der Kreuzungspartner I	II
1.	♀	♀	49	2o	29	1 : 1	ai$^+$	ai
2.	♀*	♀*	49	23	26			
3.	♀		18	18	--	keine Aufspaltung	ai$^+$	
4.	♀		16	16	--		ai$^+$	
5.	♀	♀*	14	14	--		ai$^+$	ai$^+$
6.	♀		39	18	21	1 : 1	ai	
7.	♀		43	24	19		ai	
8.	♀		43	23	2o		ai$^+$	
9.	♀		45	21	24		ai$^+$	
1o.	♀	♀*	21	--	21	keine Aufspaltung	ai	ai
11.	♀		15	--	15		ai	
12.	♀		19	--	19		ai	

(Kreuzungstypen spalteten auf wie erwartet und sind nicht in der Tabelle angegeben)

(homozygot rezessiv) sind auch die dikaryotischen Fruchtkörper dunkel gefärbt.

Dieser Befund überrascht nicht, haben wir doch hier einen experimentellen Beweis, daß die durch morphologische Diözie bewirkte Heterozygotie bei Diplonten in haploiden Dikaryen phänokopiert wird. Das Dikaryon verhält sich also physiologisch in diesem Fall wie ein Diplont.

2. Dikaryotisches Fruchten

Wie bereits schon im vorigen Abschnitt mehrfach erwähnt, gibt es zwischen dem monokaryotischen und dikaryotischen Fruchten offensichtlich Zusammenhänge. Dies gilt besonders für die Verhinderung der Fruchtkörperbildung durch das "Stroma"-Gen (st) und für die dunklen Fruchtkörper vom "Aida"-Typ.
Auf Grund der vorstehend bereits beschriebenen Versuche kann man Monokaryen mit bekannter genetischer Konstitution für das monokaryotische Fruchten erhalten und diese miteinander compatibel kombinieren. Die Auswertung der dikaryotischen Fruchtkörperbildung erlaubt dann Rückschlüsse auf die Wirkung der Gene des monokaryotischen Fruchtens im Dikaryon.

Zu diesem Zwecke wurden zunächst monokaryotische Fruchter mit allen anderen Typen kombiniert (siehe Tab. 13 Nr. 1 - 5) und die dikaryotische Fruchtkörperbildung hinsichtlich Fertilität und Zeitpunkt der Fruchtkörperbildung evaluiert; in einer weiteren Versuchsreihe wurden monokaryotische Nichtfruchter (*) ebenfalls mit allen anderen möglichen Typen kombiniert und in der gleichen Weise analysiert (siehe Tab. 13 Nr. 6 - 9).

Tab. 13: Wirkung der Gene des monokaryotischen Fruchtens im Dikaryon.

Nr.	Phänotypen der Kreuzungspartner I	II	Anzahl der Dikaryen	Fertilität der Dikaryen (%)	Zeitpunkt der dik. Fruchtens	Genotypen der Kreuzungspartner I	II
1.			17	1oo	(5-7)d.		$fi_1^+fi_2^+fb^+$ st
2.			13	1oo			$fi_1^+fi_2^+$fb st
3.			1o	1oo		$fi_1^+fi_2^+fb^+$st	fi^+fifb st*
4.			13	1oo	(6-9)d.		fi_1fi_2fb st
5.			15	1oo			fi_1fi_2fb st$^+$
6.			13	77			$fi_1^+fi_2^+$fb st
7.			11	75	(1o-2o)d		fi^+fifb st
8.			23	52		fi_1fi_2fb st	fi_1fi_2fb st$^+$
9.			22	68	(14-26)d		fi_1fi_2fb st

(Symbole wie in Abb.4)

* fi^+fifb st = $fi_1^+fi_2$fb st oder $fi_1fi_2^+$fb st

Die Daten der Tabelle lassen folgende Schlußfolgerungen zu:

1) Bei allen Kreuzungen, bei denen ein monokaryotischer Fruchter beteiligt ist entstehen immer auch dikaryotische Fruchtkörper (Fertilität = 1oo %) innerhalb einer relativ kurzen Zeitspanne (6 - 9) d.

2) Bei Kreuzungen, bei denen jeweils ein Partner keine aktiven Allele der Fruchtergene trägt nimmt die Fruchtungsbereitschaft der Dikaryen deutlich ab (Fertilität reduziert).

3) Mit der schrittweisen Verringerung der Anzahl aktiver Allele der Gene für das monokaryotische Fruchten schiebt sich der Zeitpunkt der dikaryotischen Fruchtkörperbildung hinaus. Dies führt in der Kombination Nr. 9 und 1o sogar dazu, daß nahezu die Hälfte aller Dikaryen überhaupt nicht mehr fruktifizieren.

4) Die Ergebnisse dieser Versuche erlauben die allgemeine Aussage, daß für beide alternativen Wege der Fruchtkörperbildung die genetische Kontrolle ähnlich ist. Dies gilt besonders für das "Stroma"-Gen, das ja im homozygoten Zustand auch die dikaryotische Fruchtkörperbildung verhindert.

5) Bei weiteren Kreuzungen von "Stroma"-Phänotypen (insgesamt 17) konnte in keinem Falle eine dikaryotische Fruchtkörperbildung beobachtet werden.

II. Myzel Morphologie

Im Verlaufe der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene "Myzel"-Typen unter den Monokaryen beobachtet. Ein Typ bildet auf den Agarmedien ein gleichmäßig in alle Richtungen wachsendes, rundes Myzel, während ein anderer Typ ein unregelmäßiges Wachstum zeigt und infolgedessen wie ausgefranst aussieht. (siehe Abb. 7)

Bei Neurospora sind eine ganze Reihe verschiedener Myzelmorphologien beschrieben worden, die alle jeweils ein rezessives Merkmal darstellen. (Scott, 1976; Garnjobst und Tatum, 1967; Murray und Srb, 1962).

Da besonders bei dem fransigen Myzeltyp häufig Schwierigkeiten auftraten, Primordien oder Initialen der Fruchtkörper sofort und eindeutig zu identifizieren, war es auch aus diesem Grunde notwendig zu klären, welche genetische Kontrolle hier vorliegt.

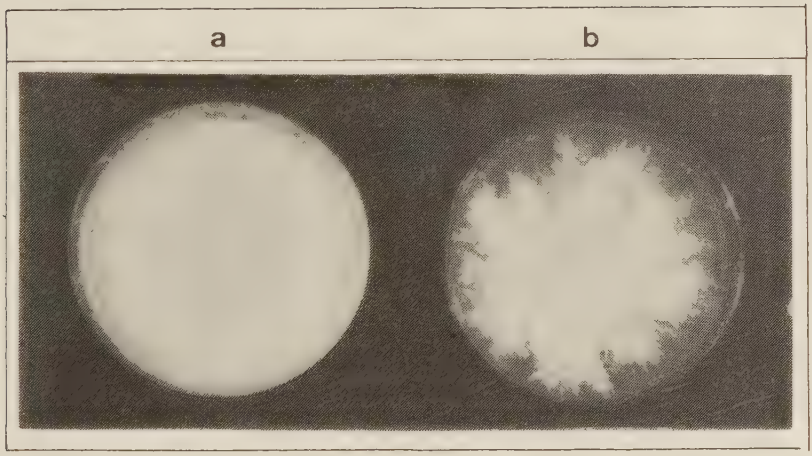


Abb. 7: Myzelphänotypen:
a. Rundes Myzel (rd)
b. Fransiges Myzel (rd^+)

Um zu überprüfen, ob diese verschiedenen Myzelphänotypen überhaupt einer genetischen Kontrolle unterliegen, wurden Kreuzungen zwischen diesen beiden Typen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Kreuzungen sind in Tab. 14 zusammengefaßt.

Die Daten dieser Tabelle lassen folgende Aussagen zu:

1) In allen Kreuzungen tritt eine 1 : 1 Aufspaltung der beiden Typen auf.

Tab. 14: Ergebnisse der Kreuzungen zwischen "Rundmyzel"-Phänotyp und "Fransenmyzel"-Phänotyp

Nr.	Phänotypen der Kreuzungspartner I	II	Kreuzungstypen der Kreuzungspartner I	II	Anzahl der Sporen	Phänotypen und Kreuzungstypen der Nachkommen ⊛	Kreuzungstyp A_1B_1	A_1B_2	✳	Kreuzungstyp A_2B_2	A_2B_1	Aufspaltungsverhältnis der Nachkommen 1 ⊛ A_1 : ✳ A_2	Genotypen der Kreuzungspartner I	II
1.			A_1B_1	A_2B_2	39	16	7	9	23	13	1o			
2.					25	13	5	8	12	7	5			
3.	⊛	✳			75	39	15	24	36	2o	16	1 : 1	rd	rd^+
4.			A_1B_2	A_2B_1	28	12	8	4	16	6	1o			
5.					17	1o	5	5	7	3	4			
≤	⊛	✳	A_1-	A_2-	184	9o	4o	5o	94	49	45	1 : 1	rd	rd^+

Der Chi^2-Test liefert P-Werte immer > o,5

⊛ "rundes Myzel"-Phänotyp

✳ "fransiges Myzel"-Phänotyp

2) Der Phänotyp "Rundes Myzel" ist streng mit dem A_1-Incompatibilitätsfaktor gekoppelt, das fransige Myzel taucht nur mit A_2 Faktor auf.

3) Da in den Kreuzungsdikaryen stets fransiges Myzel zu beobachten ist, muß man annehmen, daß das Merkmal "Fransiges Myzel" dominant ist. Kreuzungen mit homozygot fransigem oder homozygot rundem Myzel sind wegen der Kopplung dieses Merkmals an den A-Faktor natürlich nicht möglich, da alle solche Kombinationen incompatibel sind ($A = B \neq$).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß zwischen beiden Myzelphänotypen eine monogene Differenz vorliegt, aber ob es sich dabei um ein separates Gen (rd) handelt, oder ob die verschiedenen A-Faktorspezifitäten gleichzeitig auch den Myzelphänotyp bestimmen, läßt sich nicht eindeutig sagen. Falls es sich um einen vom A-Faktor verschiedenen Lokus handelt, so muß der Abstand auf Grund der Kreuzungsdaten jedoch geringer als o,54 Kartierungseinheiten sein.

III. Zytologische Untersuchungen

Bei der Charakterisierung der monokaryotischen Fruchtkörper wurde gesagt, daß die Basidien dieser Fruchtkörper in der Regel nur zwei Sporen tragen, während in den dikaryotischen Fruchtkörpern Basidien mit 4 Sporen zu finden sind.
Die genetischen Daten (z. B. Aufspaltung der Kreuzungstypen) zeigen, daß in den dikaryotischen Fruchtkörpern die Sporen Kerne erhalten, die das Produkt einer Meiose sind, während in monokaryotischen Fruchtkörpern offenbar nur Mitosen stattfinden.
Obwohl von Stahl (1975) bei P. ciliatus ausschließlich mitotische Kernteilungen in den Basidien monokaryotischer Fruchter nachgewiesen wurden, lassen sich diese Aussagen aber nicht generell auf alle Basidiomyceten anwenden, da bei Coprinus macrorhizus monokaryotische Stämme existieren, in deren Fruchtkörpern eine Sexualreaktion (Karyogamie und Meiose) stattfindet (Miyake, et al. 1980). Um zu klären, welcher Art die Kernteilung in den monokaryotischen Fruchtkörpern von S. commune sind, wurden dikaryotische und monokaryotische Fruchtkörper vergleichend zytologisch untersucht.
In der Fruchtschicht eines dikaryotischen Fruchtkörpers von S. commune können alle Phasen der Meiose und Sporenbildung gefunden werden. Dies läßt sich darauf schließen, daß die Sporenbildung bei diesem Pilz nicht synchron abläuft, wie etwa bei den Coprinaceae (Lu und Raju, 1970).

Vor den beiden meiotischen Teilungen findet in den dikaryotischen Basidien die Karyogamie der beiden Elternkerne (siehe Abb. 8a) statt.
Nach der Karyogamie folgt die Meiose I (siehe Abb. 8 b,c) und unmittelbar darauf folgt die Meiose II (siehe Abb. 8d), erkenntlich an den 4 Kernen in der Basidie. Schließlich wandern diese durch die Strigmen in die Sporen. (siehe Abb. 8e).
In den Sporen erfolgt - häufig erst nach der Abschnürung - in den meisten Fällen noch eine weitere Mitose, so daß die Basidiosporen von S. commune schließlich 2 Kerne enthalten.

Im Hymenium eines monokaryotischen Fruchtkörpers werden Basidien nur sehr selten gefunden. Sie enthalten aber niemals die bei den dikaryotischen Fruchtkörpern gefundenen paarungsbereiten zwei Elternkerne, sondern immer nur 1 Kern pro Basidie (siehe Abb. 8a). Ausgehend von diesem einen Kern findet nur eine Kernteilung statt (siehe Abb. 8 b,c und d).

Nach Vollendung dieser einen Teilung erfolgt keine weitere Teilung, sondern die beiden Kerne wandern durch die Sterigmen in die Sporen. Wie bei den dikaryotischen Sporen erfolgt auch hier innerhalb der Sporen noch eine weitere Mitose, so daß die Sporen ebenfalls zweikernig sind.

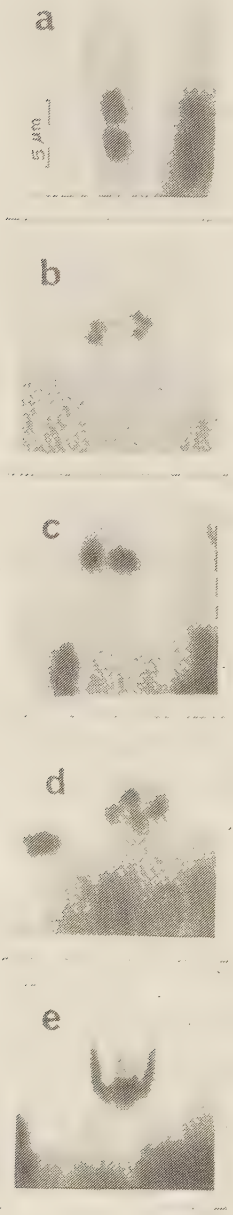


Abb. 8:
Sporenbildung in dikaryotischen Basidien
(s. Text)

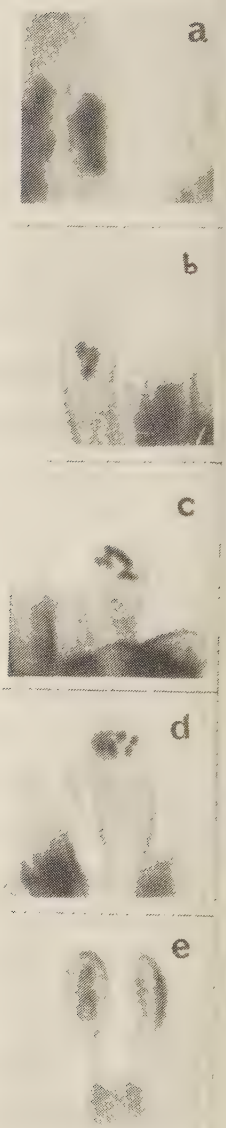


Abb. 8:
Sporenbildung in monokaryotischen Basidien
(s. Text)

Man ist häufig versucht bei cytologischen Untersuchungen dieser Art auch Aussagen zu treffen über die Zahl der Chromosomen des untersuchten Organismus. Will man dies auch in diesem Falle tun, so gelangt man vorwiegend durch die Untersuchungen der monokaryotischen Basidien zu der Aussage, daß S. commune mindestens 3 Chromosomen hat (siehe Abb. 8c). Die Chromosomen-Zahlen dieses Organismus sind jedoch umstritten, da verschiedene Autoren auch eine unterschiedliche Anzahl von Chromosomen beschreiben. Einmal werden 3 Chromosomen beschrieben (Ehrlich und Mc Donough, 1949), ein weiteres Mal 8 (Radu et al. 1974), Hapaala und Nienstedt (1976) beschreiben 4 Chromosomen und Carmi, et al. (1978) schließlich 11 Chromosomen. Die verschiedenen Chromosomenzahlen könnten ganzzahlige Vielfache einer Grundeinheit darstellen; so beschrieben Pinto-Lopes und Almeida (1976) und auch Kimura und Kadoya (1962) z. B. monokaryotische, dikaryotische und trikaryotische Fruchtkörper bei Coprinus.
Allerdings können die unterschiedlichen Zahlen auch einfach aus den unterschiedlichen Untersuchungsmethoden resultieren, etwa in der Art: je empfindlicher die Methoden, desto höher die Chromosomenzahl. So wird die höhere Chromosomenzahl (11) nach elektronmikroskopischen Untersuchungen von Serienschnitten bei S. commune angegeben.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß in den Fruchtkörpern der Mono- und Dikaryen Kernteilungsprozesse ablaufen, die z. T. äquivalent sind. In den Dikaryen erfolgt die Sporenbildung allerdings nach einer Reduktionsteilung, während in den Monokaryen der Sporenbildung eine Mitose vorausgeht.

E DISKUSSION

Der höhere Basidiomycet Schizophyllum commune bildet sowohl in der dikaryotischen als auch in der monokaryotischen Phase fertile Fruchtkörper. Diese sind makroskopisch und mikroskopisch voneinander zu unterscheiden. Abb. 9 zeigt die Bildung der Fruchtkörper im vegetativen und sexuellen Zyklus.

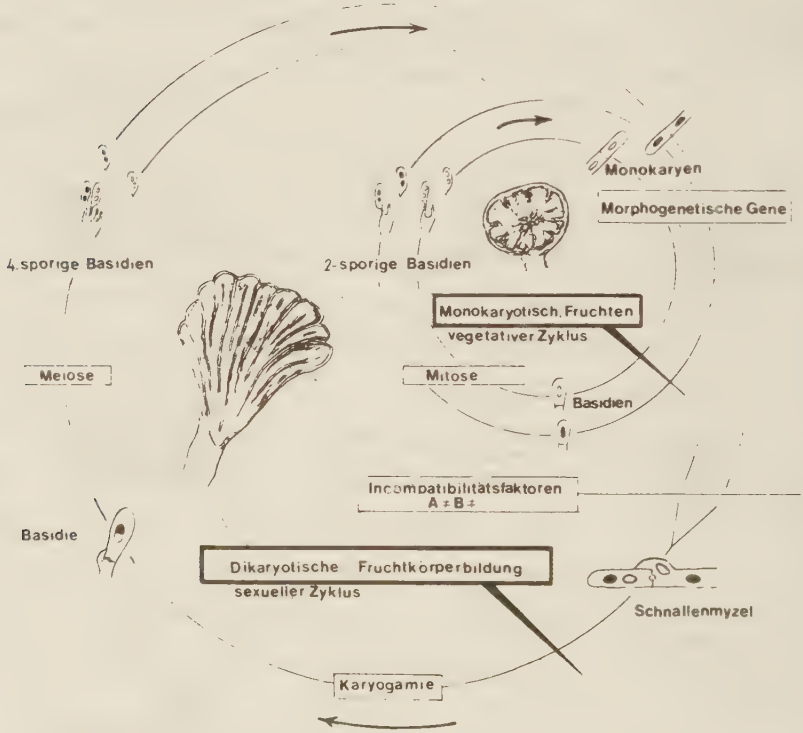


Abb. 9: Fruchtkörperbildung im vegetativen und sexuellen Zyklus bei Schizophyllum commune

Ein ähnlicher Lebenszyklus, wie er in Abb. 9 für S. commune dargestellt ist, ließe sich auch für eine ganze Reihe anderer höherer Basidiomyceten aufstellen, da für sehr viele Vertreter dieses Taxons das monokaryotische Fruchten nachgewiesen ist.

Jedoch scheint nicht nur das Phänomen allgemein verbreitet zu sein, sondern auch die genetische Kontrolle des monokaryotischen Fruchtens ist bei vielen Vertretern vergleichbar, was im Folgenden noch näher ausgeführt wird.

Bei S. commune unterliegt das monokaryotische Fruchten der Kontrolle einer ganzen Serie von Genen, die aufeinanderfolgend wirken, so werden die Fruchtkörperinitialen entweder durch fi_1^+ oder fi_2^+ bewirkt. Beide Gene zusammen bewirken den Phänotyp "Stiele", ein weiteres Gen fb^+ ist für die völlige Ausdifferenzierung zu fertigen Fruchtkörpern verantwortlich. Das "Stroma" Gen (st^+) ist epistatisch über alle diese Gene und führt in jedem Fall zur Ausbildung amorpher, kugeliger, plektenchymatischer Haufen. Die Wirkungen und Wechselwirkungen all dieser Gene ist in Abb. 1o zusammengefaßt.

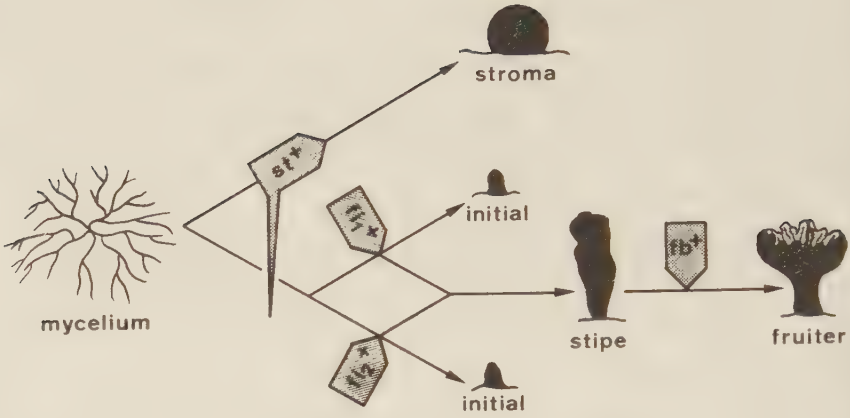


Abb. 1o: Genetische Kontrolle des monokaryotischen Fruchtens in Schizophyllum commune. Nähere Erläuterung im Text.
(aus Esser, et.al 1979)

Gene, die die monokaryotische Fruchtkörperbildung auslösen oder initiieren (fi-Gene) sind in ähnlicher Form auch für Polyporus ciliatus und Agrocybe aegerita beschrieben. (Stahl, 1975; Stahl und Esser, 1976; Meinhardt, 198o; Meinhardt und Esser, 1981). Die Daten von Takemaru und Kamada (1972) für Coprinus macrorhizus lassen u. U. ebenfalls auf die Existenz solcher Gene in diesem Pilz schließen. Die von Perkins und Raper (197o) beschriebenen Stämmen von S. commune (Cohesiveless) und die von Schwalb und Miles (1967) beschriebenen "thin" Mutanten könnten Mutationen in den fi-loci darstellen; wo-

gegen viele der Gene die von Leslie und Leonard (1979 a,b) für die Initiierung der Fruchtkörperbildung verantwortlich gemacht werden, offensichtlich nur rein zufällig auch die Fruchtkörperbildung beeinflussen.

Die weitere Ausdifferenzierung der monokaryotischen Fruchtkörper wird bei A. aegerita und P. ciliatus ähnlich wie bei S. commune durch ein Gen, das in allen 3 Fällen fb genannt wurde, kontrolliert. Bei C. macrorhizus wird von Kimura und Fujio (1961) beschrieben, daß das Merkmal "undeveloped fruit bodies" der Kontrolle eines einzelnen Genes unterliegt.

Auch der Wirkung des "Stroma"-Genes (st^+) vergleichbare genetische Elemente sind bei den bereits häufig genannten beiden anderen Basidiomyceten P. ciliatus und A. aegerita nachgewiesen.

> Bei P. ciliatus bewirkt ein Gen (mod^+) in seinem aktiven Allel, daß nur Myzelwucherungen entstehen, dieses Gen ist epistatisch über die Fruchtergene. Bei A. aegerita ist ein Gen (su^+) beschrieben, das die Wirkung des fi-Genes unterdrückt und bewirkt, daß das Myzel ohne plektenchymatische Strukturen bleibt. Dieses Gen führt also nicht zu Stromastrukturen, ist aber in seiner Wirkung, nämlich Verhinderung der Fruchtkörperbildung dem st^+-Gen zu vergleichen.

Die von Leonard (1975) bei S. commune beschriebenen erblichen "Neoplasmen" dürften mit den "Stroma"-Strukturen dieser Arbeit identisch sein, zumal diese "Neoplasmen" auch die Fruchtkörperbildung beeinflussen. Erst kürzlich wurden auch bei

C. macrorhizus ähnliche Strukturen beschrieben und als "Rookery"-Phänotyp bezeichnet, dieser Phänotyp unterliegt nach Nyunoya und Ishikawa (1979) ebenfalls der Kontrolle durch ein Gen (roc/roc^+).

Aus den genannten Beispielen und aus dieser Arbeit geht demnach hervor, daß das monokaryotische Fruchten der höheren Basidiomyceten einer sehr ähnlichen genetischen Kontrolle unterliegt, da bei allen bisher untersuchten Vertretern ähnliche Prinzipien verwirklicht sind.

Ein ähnliches Phänomen wie das monokaryotische Fruchten der Basidiomyceten wurde auch bei den Schleimpilzen (Myxomycetes) entdeckt. Es existieren Stämme von Physarum polycephalium, deren Amöben zu haploiden Plasmodien aggregieren, an denen auch Sporangien und Sporen gebildet werden, ohne daß Karyogamie und Meiose stattgefunden haben (Cooke und Dee, 1974; Dee, 1975).

In neuerer Zeit wurde von Honey, et al. (1979) ein einziges Differenzierungsgen (dif A) bei P. cephalum beschrieben. Mutationen in diesem Gen verhindern die Plasmodienbildung in Stämmen, die normalerweise haploide Plasmodien mit Sporangien bilden.

Die Tatsache, daß auch bei den Ascomyceten monokaryotisches Fruchten beobachtet wird (siehe z. B. die Vacua-Stämme von Podospora anserina - Esser und Graw, 1980) zeigt, daß es sich

dabei um ein bisher kaum beachtetes aber wohl doch generelle Phänotypen handelt: Morphogeneseschnitte, die mit sexueller Differenzierung verbunden sind, einschließlich der Fruchtkörperbildung müssen nicht notwendigerweise an einen Sexualzyklus gebunden sein, da die gleichen oder aber vergleichbare Differenzierungsprozesse auch im Verlaufe vegetativer Fortpflanzung auftreten.

Hinsichtlich der Beeinflussung der Myzelmorphologie sind bei S. commune an erster Stelle die Incompatibilitätsfaktoren zu nennen, da bestimmte Kombinationen bereits deutlich an dem resultierenden Myzel zu erkennen sind (s. Einführung). Sollte auch die Myzelmorphologie der Monokaryen durch einen Incompatibilitätsfaktor bestimmt sein und nicht durch ein eng gekoppeltes Gen, so wäre dies erstaunlich. Das ist nicht von vornherein zu erwarten, da erst kürzlich von Riegman und Wessels (1980) ein Myzelphänotyp beschrieben wurde, der zwar auch der Kontrolle eines Kerngenes unterliegt, dieses ist aber nicht mit einem der Incompatibilitätsfaktoren gekoppelt.
Dieser Myzelphänotyp, bei dem das Myzel nicht nur fransig wächst, sondern auch noch Löcher hat, ist identisch mit dem vom Koltin et al. (1973a) beschriebenen Myzelien. Letztere Autoren bezeichnen die Löcher in Analogie zu den Bakterien als Plaques, da in solchen Plaque-Myzelien virusähnliche Partikel vorkommen sollen.
Die Untersuchungen von Papazian (1950; 1951) an den sogenannten "dwarf"-Stämmen (Myzelien mit schnellwüchsigen Sekto-

ren zeigen, daß auf die Myzelmorphologie eine ganze Reihe genetischer Faktoren einen Einfluß haben.

Das dikaryotische Fruchten von S. commune wird durch die Gene des monokaryotischen Fruchtens zumindest stark beeinflußt. So fruktifizieren Dikaryen immer dann sehr schnell und reichlich, wenn mindestens ein Elter ein monokaryotischer Fruchter ist. Wird die Gendosis für das monokaryotische Fruchten sukzessive verringert bis hin zur Kombination von Monokaryen, die keine aktiven Gene für das monokaryotische Fruchten mehr tragen, so nimmt insgesamt auch die Fruchtungsfähigkeit (Fertilität) der entstehenden Dikaryen ab. Noch deutlicher und eindringlicher ist die ebenfalls beobachtete Verzögerung der dikaryotischen Fruchtkörperbildung bei den Kombinationen mit vorwiegend inaktiven Allelen der Fruchtergene fi_1, fi_2 und fb (siehe Abb. 11).

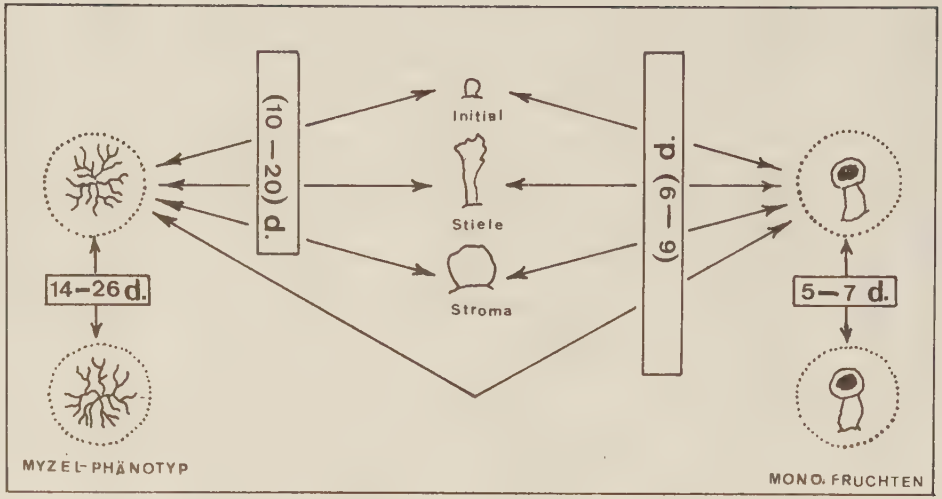


Abb. 11: Abhängigkeit der dikaryotischen Fruchtkörperbildung von der Gendosis der monokaryotischen Fruchtergene (s.Text)

Vergleicht man die Daten der dikaryotischen Fruchtkörperbildung von S. commune mit den Daten, die für A. aegerita erhalten wurden (Meinhardt, 1980), so zeigen sich hinsichtlich der dikaryotischen Fruchtkörperbildung Parallelen, aber auchauch Unterschiede.

Bei A. aegerita zeigt sich ähnlich wie bei S. commune für den Parameter Zeitpunkt der Fruchtkörperbildung eine Gendosisabhängigkeit von den fi und fb-Genen.

Allerdings werden bei A. aegerita alle Fruchtkörperstadien in beiden alternativen Wegen streng durch die gleichen Gene kontrolliert, so daß Dikaryen die homozygot inaktive monokaryotische Fruchtergene tragen gar nicht mehr fruktifizieren. Diese strenge genetische Kontrolle ist bei S. commune nicht gegeben, da immerhin auch in Kreuzungen von monokaryotischen Nichtfruchtern noch mehr als 50 % der resultierenden Dikaryen Fruchtkörper produzieren. Jedoch lassen die erhaltenen Daten die Interpretation dahin tendieren, daß beide alternativen Wege der Fruchtkörperbildung zumindest zum Teil von den gleichen genetischen Faktoren kontrolliert werden.

Für die Praxis haben derartige Untersuchungen eine große Bedeutung, so kann es z. B. bei Organismen, die man aus Stammsammlungen erhält und die häufig nicht mehr fruktifizieren, zu einer unbewußten Selektionierung von Nichtfruchtern gekommen sein. Die Bedeutung der Ergebnisse für die Züchtung von Speisepilzen oder für die Schaffung von Stämmen, aus deren Fruchtkörpern man bestimmte Substanzen isolie-

ren möchte, liegt natürlich ebenfalls auf der Hand. Dies ist besonders wichtig zu erwähnen, da ja das in dieser Arbeit untersuchte Phänomen nicht nur auf einige wenige Ausnahmen zu beschränken ist, sondern zumindest für die Basidiomyceten nahezu allgemein gilt.

Betrachtet man die Wirkung des "Stroma"-Gens (st^+) im Dikaryon, so fällt auf, daß in Kreuzungen von zwei "Stroma"-Typen niemals dikaryotische Fruchtkörper gebildet werden, sondern auch das Dikaryon nur stromatische, amorphe Strukturen bildet. Ähnliches gilt auch für Polyporus ciliatus, bei dem eine doppelte Dosis des "modifier"-Gens (mod^+) ebenfalls dazu führt, daß auch das Dikaryen in der Regel nur noch Myzel-Wucherungen hervorbringt (Stahl, pers. Mitt.). Da auch bei Coprinus macrorhizus die sogenannten "Rockery"-Stämme - bewirkt durch das roc^+-Gen - in homozygoten Kombinationen diese stromatischen Strukturen bilden (Nyunoya und Ishikawa, 1979) ist auch hier die Aussage gestattet, es könne sich um ein allgemeines Prinzip bei den Basidiomyceten handeln.
Vordergründig scheinen diese Gene (st, mod, roc) von dem Suppressor-Gen (su) bei A. aegerita verschieden zu sein, da sie ja eine Differenzierung von stromatischen Strukturen bewirken, während das su^+-Gen von A. aegerita in homozygoten Kombinationen eine Differenzierung irgendwelcher plektenchymatischer Strukturen auch im Dikaryon in der Regel nicht zuläßt. In ihrer Wirkung auf die Fruchtkörperbildung sind diese Gene aber alle von der gleichen Qualität:

Sie lassen eine bestimmte Differenzierung zu oder nicht, d. h. sie stellen die genetische Schwelle dar, die überschritten werden muß, damit es überhaupt zur Bildung von Fruchtkörpern kommen kann.

> Für Coprinus cinereus beschrieb Moore (1981) kürzlich genetische Faktoren, die die Morphogenese entweder in Richtung Fruchtkörperbildung kanalisieren oder aber es werden stromatische Dauerformen gebildet, die es dem Pilz ermöglichen, Perioden ungünstiger Umwelteinflüsse zu überleben. Bei diesen Genen könnte es sich um ähnliche genetische Schalter handeln, wie die oben beschriebenen Gene.

Neben den in dieser Arbeit untersuchten und genetisch analysierten Morphogenesestadien sind bei S. commune noch viele andere Stadien bekannt und zum Teil ist auch versucht worden, die genetischen Grundlagen zu erfassen.

> Raper und Krongelb (1958) untersuchten z. B. eine Reihe von Fruchtkörpermißbildungen und stellten fest, daß die meisten dieser Phänotypen durch jeweils 1 Gen kontrolliert werden.

Natürlich ist die Morphogenese der Fruchtkörper von Schizophyllum nicht nur durch die wenigen Stadien - vom Myzel über Anlgen und Stiele bis zum fertigen Fruchtkörper - charakterisiert. Dies wird z. B. auch deutlich durch die Untersuchungen der Aida-Stämme, die spontan im Untersuchungsmaterial auftauchten.

Derartige Untersuchungen einzelner morphogenetischer Mutanten gibt es auch für viele andere Basidiomyceten. Bei Lentinus edodes werden z. B. die Merkmale "Sporenlosigkeit", "Weiße Hüte" und "Braune Lamellen" durch einzelne rezessive Gene kontrolliert (Komatsu und Kimura, 1964 a,b; 1968).

Es war aber nicht Aufgabe dieser Arbeit einzelne morphologische Mutanten isoliert zu untersuchen, sondern es sollte das grundlegende Prinzip oder System, das die Morphogenese der Fruchtkörper kontrolliert, erfaßt werden. Dabei ist deutlich geworden, daß es bei S. commune und offenbar auch bei anderen Basidiomyceten genetische Schalter gibt, die eine Differenzierung von Fruchtkörpern zulassen oder nicht.

Aus den zytologischen Untersuchungen geht hervor, daß die Grundlage der viersporigen Basidien in den dikaryotischen Fruchtkörpern Karyogamie und Meiose sind, während die zweisporigen Basidien der monokaryotischen Fruchter auf einer mitotischen Kernteilung basieren. Damit ist eindeutig geklärt, daß das monokaryotische Fruchten von S. commune als Teil eines vegetativen Fortpflanzungszyklus anzusehen ist.
Die Beobachtung von Miyake et al. (1980), daß bei monokaryotischen Stämmen von Coprinus macrorhizus Karyogamie und Meiose ablaufen und vier Sporen gebildet werden, scheinen demnach eine Ausnahme zu sein. Die Daten dieser japanischen Arbeitsgruppe lassen sich dahingehend interpretieren, daß

daß wohl in solchen Stämmen Mutationen von der Incompatibilität zur Selbstfertilität geführt haben.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Der holzzerstörende höhere Basidiomycet Schizophyllum commune bildet sowohl im sexuellen Zyklus als auch im vegetativen Zyklus Fruchtkörper. Die letzteren, sogenannten monokaryotischen Fruchtkörper besitzen eine unterschiedliche Morphologie, die von kleinen Initialen, über Stiele bis zu fast normal aussehenden Fruchtkörpern reicht. Diese monokaryotischen Fruchtkörper werden jeweils von Myzelien gebildet, die von einer haploiden Basidiospore abstammen. Die vollentwickelten monokaryotischen Fruchtkörper tragen Hymenien mit Basidien, die in der Regel nur zwei Sporen tragen, während die dikaryotischen Fruchtkörper des sexuellen Zyklus normalerweise 4 Sporen pro Basidie tragen.

Zytologische Untersuchungen haben ergeben, daß in den Basidien der monokaryotischen Fruchtkörper der Sporenbildung eine mitotische Teilung vorausgeht; in den Basidien der dikaryotischen Fruchtkörper werden dagegen regelmäßig sexuelle Prozesse (Karyogamie und Meiose) beobachtet.

Genetische Analysen haben ergeben, daß die Morphogenese der monokaryotischen Fruchtkörper einer strengen Kontrolle von Kerngenen unterliegt. Zwei gleichberechtigte Gene (fi_1 und fi_2) führen jedes für sich zur Ausbildung von kleinen Fruchtkörperinitialen, agieren aber beide zusammen, bewirken sie, daß lange Stiele gebildet werden. Nur in Gegenwart dieser

Gene kann sich ein weiteres Gen (fb) ausprägen, das phänotypisch zu fertigen Fruchtkörpern führt. Ein weiteres Gen (st) bewirkt die Ausbildung von größeren stromatischen Strukturen und wirkt epistatisch auf die anderen Gene des monokaryotischen Fruchtens, d. h. in seinem aktiven Allel verhindert dieses Gen die Differenzierung von monokaryotischen Fruchtkörpern. Weitere genetische Untersuchungen ergaben, daß die spontan aufgetretene dunkle Färbung eines monokaryotischen Fruchtkörpers ein rezessives Merkmal darstellt und der Kontrolle durch 1 Gen unterliegt.

Für das dikaryotische Fruchten kann aus den Experimenten postuliert werden, daß die genetische Kontrolle zumindest teilweise den gleichen Faktoren unterliegt wie das monokaryotische Fruchten, da in Kreuzungen von Stämmen mit inaktiven Allelen der monokaryotischen Fruchtergene (fi_1, fi_2, fb) eine deutliche Abnahme der Fruchtungsbereitschaft der Dikaryen zu beobachten ist. Falls in derartigen Kombinationen noch Fruchtkörper gebildet werden, so erscheinen diese auf jeden Fall zeitlich stark verzögert.

Werden monokaryotische Stämme, die jeweils ein aktives Gen für die "Stromabildung" (st^+) tragen gekreuzt, so werden unabhängig von der weiteren genetischen Ausstattung der Stämme auch im resultierenden Dikaryon nur "Stroma"-Strukturen gebildet, d. h. auch die Differenzierung von dikaryotischen Fruchtkörpern ist auf eine bestimmte Schalterstellung dieses Genes angewiesen. Das Gen (st^+)

kontrolliert somit welcher Morphogeneseweg eingeschlagen wird.

Auch das Wachstum des Myzels unterliegt der Kontrolle von Kerngenen, so ist das Merkmal eines in alle Richtungen gleichmäßig wachsenden Myzels (Rundmyzel) rezessiv und mit einem A-Faktor identisch oder aber eng gekoppelt.

G LITERATURÜBERSICHT

Ainworth, G. C.: Longevity of Schizophyllum commune. Nature 195, 112o - 1121 (1962)

Burnett, J. H.: Mycogenetics - An Introduction to the General Genetics of Fungi. John Wiley and Sons, New York 1975

Burnett, J. H., Partington, M.: Spatial distribution of fungal mating type factors. Proc. Roy. Phys. Soc. Edinb. 26, 61 - 68 (1957)

Carmi, P., Holm, P. B., Koltin, Y., Rasmussen, S. W., Sage, I., Zickler, D.: The pachytene Karyotype of Schizophyllum commune analysed by three dimensional reconstruction of Synaptonemal complexes. Carlsberg. Res. Commun. 43, 117 - 132 (1978)

Carr, A. J. H., Olive, L. S.: Genetics of Sordaria fimicola. III. Cross compatibility among self-fertile and self-sterile cultures. Amer. J. Bot. 46, 81 - 91 (1959)

Casselton, L. A.: Dikaryon Formation in higher basidiomycetes. In: J. E. Smith, D. R. Berry (eds.): The filamentous fungi. Vol. III, pp. 272 - 297, Edward Arnold, London, 1978

Chilton, S. J. P., Lucas, G. B., Edgerton, C. W.: Genetics of Glomerella. III. Crosses with a conidial strain. Amer. J. Bot. 32, 549 - 554 (1945)

Cooke, D. J., Dee, J.: Plasmodium formation without change in nuclear DNA content in Physarium polycephalum. Genet. Res. 23, 3o7 - 317 (1974)

Cooke, Wm. B.: The genus Schizophyllum commune. Mycologia 53, 575 - 599 (1961)

Dee, J.: Slime molds in biological research. Sci. Prog. Oxf. 62, 523 - 542 (1975)

Dubovoy, C., Muñoz, A.: Effect of methylxanthines in Sexuality of Schizophyllum commune . Mycologia 71 , 855 - 861 (1979)

Edgerton, C. W.: Plus and minus strains in an ascomycete. Science 35, 151 (1912)

Edgerton, C. W.: Plus and minus strains in the genus Glomerella. Amer. J. Bot. 1, 244 - 254 (1914)

Ehrlich, H. G., Mc Donough, E. S.: The nuclear history in the basidia and basidiospores of Schizophyllum commune. Amer. J. Botany 36, 36o - 363 (1949)

Esser, K.: Incompatibilität bei Pilzen. Ber. Deut. Bot. Gesell. LXXIV, 324 - 325 (1961)

Esser, K.: Incompatibility. In: G. C. Ainworth, A. S. Sussman (eds.): The Fungi, vol. II, pp. 661 - 676, Acad. Press. London New York, 1966

Esser, K.: Breeding systems in fungi and their significance for genetic recombination. Molec. Gen. Genet. 11o, 86 - 1oo (1971)

Esser, K.: Breeding systems and evolution. In: M. J. Carlile and J. J. Skehel (eds.): Evolution in the microbial world. pp. 87 - 1o4, Univ. Press Cambridge, 1974

Esser, K.; Kryptogamen: Blaualgen, Algen, Pilze, Flechten. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1976

Esser, K.: Concerted breeding in fungi and its biotechnological application. Endeavour New Ser. 1, 143 - 148 (1977)

Esser, K., Blaich, R.: Heterogenic Incompatibility in plants and animals. Adv. in Genetics 17, 1o7 - 152 (1973)

Esser, K., Graw, D.: Homokaryotic fruiting in the bipolar Incompatible Ascomycete Podospora anserina. Mycologia 72, 534 - 541 (198o)

Esser, K., Kuenen, R.: Genetics of fungi. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967

Esser, K., Meinhardt, F.: A common genetic control of dikaryotic and monokaryotic fruiting in the basidiomycete Agrocybe aegerita. Molec. Gen. Genet. 155, 113 - 115 (1977)

Esser, K., Raper, J. R. (eds.): Incompatibility in fungi. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1965

Esser, K., Saleh, F., Meinhardt, F.: Genetics of fruit body production in higher basidiomycetes. II. Monokaryotic and dikaryotic fruiting in Schizophyllum commune. Current Genet., 1, 85 - 88 (1979)

Esser, K., Semerdžieva, M., Stahl, U.: Genetische Untersuchungen an Basidiomyceten Agrocybe aegerita. I. Eine Korrelation zwischen dem Zeitpunkt der Fruchtkörperbildung und monokaryotischem Fruchten und ihre Bedeutung für Züchtung und Morphogenese. Theor. App. Genet. 45, 77 - 85 (1974)

Esser, K., Stahl, U., Meinhardt, F.: Genetic aspects of differentiation in fungi. In: J. Meyrath, J. D. Bu'Lock (eds.): Biotechnology and fungal differentiation. FEMS Symp. No. 4. pp. 67 - 75, Acad. Press London-New York, 1977

Esser, K., Straub, J.: Genetische Untersuchung an Sordaria macrospora auersw., Kompensation und Induktion bei genbedingten Entwicklungsdefekten. Zeitschr. f. Vererb. 89, 729 - 746 (1958)

Essig, F. M.: The morphology, development and economic aspects of Schizophyllum commune Fr. Univ. Calif. Publ. Bot. 7, 447 - 498 (1922)

Fincham, J. R. S., Day, P. R., Radford, A.: Fungal Genetics. Blackwell Scientific Publications Oxford, U. K. 1979

Flexer, A. S.: Bipolar incompatibility in Polyporus palustris. Amer. J. Bot. 52, 634 (1965)

Garnjobst, L., Tatum, E. L.: A survey of new morphological mutants in Neurospora crassa. Genetis, 57, 579 - 6o4 (1967)

Haapala, O. K., Nienstedt, I.: Chromosome ultrastructure in the Basidiomycete fungus Schizophyllum commune. Hereditas, 84, 49 - 6o (1976)

Heslot, H.: Contribution a letude cytogénétique et génétique des Sordariacies. Rev. Cytol. Biol. végét. 19 (Suppl. 2) 1 - 2o9 (1958)

Hoffmann, P.: Genetische Grundlagen der Artbildung in der Gattung Polyporus. Dissertation, Bochum, 1978

Honey, N. K., Poulter, R. T. M., Teale, D. M.: Genetic regulation of differentiation in Physarium polycephalum. Genet. Res. 34, 131 - 142 (1978)

Ingold, C. T.: Flammulina velutipes. Brit. Mycol. Soc. 14, 112 - 117 (198o)

Ishikawa, T., Uno, I.: A mechanism of fruiting body formation in Basidiomycetes. In: T. Ishikawa, Y. Maruyama, H. Matsumiya (eds.): Growth and differentiation in microorganisms. pp. 283 - 3o1, Univ. Park Press, Balt, 1977

Jahn, H.: Pilze, die an Holz wachsen. Busse, Herford (1978)

Jurand, M. K., Kemp, R. F. O.: An Incompatibility system determined by three factors in a species of Psathyrella (Basidiomycetes). Genet. Res. Cambridge 22, 125 - 134 (1973)

Käfer, E.: The processes of spontaneous recombination in vegetative nuclei of Aspergillus nidulans. Genetics 46, 1581 - 16o9 (1961)

Kimura, K., Fujio: Studies on Abnormal fruitbodies of the Hymenomycetous Fungi. I. Undeveloped Fruit-bodies of Coprinus macrorhizus f. microsporus. Rep. Tott. Mycol. Inst. 1, 19 - 28 (1961)

Kimura, K., Kadoya, K.: Studies on abnormal fruit-bodies of the hymenomycetous fungi. II. Trikaryotic fruit-bodies of Coprinus macrorhizus f. microsporus. Rep. Tottori Mycol. Inst. 2, 11 - 22 (1962)

Kniep, H.: Beiträge zur Kenntnis der Hymenomyceten I, II. Zeitschr. f. Bot. 5, 593 - 637 (1913)

Kniep, H.: Über morphologische und physiologische Geschlechtsdifferenzierung. Verh. phys.-med. Ges. Würzburg 46, 1 - 18 (192o)

Kniep, H.: Vererbungserscheinungen bei Pilzen. Bibliographia Genetica 5, 371 - 475 (1929)

Koltin, Y.: Genetic structure of Incompatibility factors - the ABC of sex. In: Schwalb, M. N., Miles, P. G. (eds.): Genetics and Morphogenesis in the Basidiomycetes. pp. 31 - 54, Acad. Press, New York-London, 1978

Koltin, Y., Berick, R., Stamberg, J., Ben-Shaul, Y: Virus-like Particles and cytoplasmic inheritance of Plaques in a higher Fungus. Natur 241, 1o8 - 1o9 (1973 a)

Koltin, Y., Stamberg, J., Lemke, P. A.: Genetic Structure and Evolution of the Incompatibility factors in higher fungi. Bact. Rev. 36, 156 - 171 (1972)

Koltin, Y., Wessels, J. G. H., van der Valk, P.: Chlamydospores of Schizophyllum commune. Arch. Mikrobiol. 91, 179 - 182 (1973 b)

Komatsu, M., Kimura, K.: Studies of abnormal fruit bodies of the hymenomycetous fungi. III. Fruit bodies with brownish gills of Lentinus edodes (Berk.) Sing. Rep. Tott-Mycol. Inst. 4, 21 - 28 (1964 a)

Komatsu, M., Kimura, T.: Studies of abnormal fruit bodies of the hymenomycetous fungi. IV. Sterile fruit bodies of Lentinus edodes (Berk.) Sing. Rep. Tott. Mycol. Inst. 4, 29 - 36 (1964 b)

Komatsu, M., Kimura, K.: Studies of abnormal fruit bodies of hymenomycetous fungi: V. Fruit bodies with white pilei of Lentinus edodes (Berk.) Sing. Rep. Tott. Mycol. Inst. 6, 9 - 17 (1968)

Kühner, R.: Variation of nuclear behaviour in the homobasidiomycetes. Trans. Br. Mycol. Soc. 68, 1 - 16 (1977)

Kuhn, J., Parag, Y.: Protein-subunit aggregation model for self-incompatibility in higher fungi; Schizophyllum commune. J. theor. Biol. 35, 77 - 91 (1972)

Leonard, T. J.: An inherited "neoplasm" in a Fungus. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 72, 4626 - 463o (1975)

Leonard, T. J., Dick, S.: Chemical induction of haploid fruiting bodies in Schizophyllum commune. Proc. Nat. Acad. USA 59, 745 - 751 (1968)

Leonard, T. J., Dick, S.: Induction of haploid fruiting by mechanical injury in Schizophyllum commune. Mycologia 65, 8o9 - 822 (1973)

Leonard, T. J., Raper, J. R.: Schizophyllum commune. gene controlling induced haploid fruiting. Science 165, 19o (1969)

Leonard, T. J., Dick, S., Gaber, R. F.: Intenuclear genetic transfer in vegetative dikaryons of Schizophyllum commune. I. Di-monmating analysis. Genetics 88, 13 - 26 (1978)

Leslie, J. F., Leonard, T. J.: Three independent genetic systems that control initiation of a fungal fruiting body. Molec. Gen. Genet. 171, 257 - 26o (1979 a)

Leslie, J. F., Leonard, T. J.: Monokaryotic fruiting in Schizophyllum commune: Genetic control of the response to mechanical injury. Molec. Gen. Genet. 175, 5 - 12 (1979 b)

Leslie, J. F., Leonard, T. J.: Monokaryotic fruiting in Schizophyllum commune: survey of a population from Wiscons in. Am. midl-Nat. 74, 167 - 17o (198o)

Lu, B. C., Raju, N. B.: Meiosis in Coprinus. II. Chromosome pairing and the Lambruch diplotene stage of meiotic prophase. Chromosoma 29, 3o5 - 316 (197o)

Lucas, G. B., Chilton, J. P., and Edgerton, C. W.: Genetics of Glomerella. I. Studies on the behavior of certain strains. Amer. J. Bot. 31, 233 - 239 (1944)

Markert, C. L.: Sexuality in the Fungus Glomerella. Amer. Naturalist 83, 227 - 231 (1949)

Markert, C. L.: Radiation induced nutritional and morphological nutants of Glomerella. Genetics 37, 339 - 352 (1952)

Mc Gahen, J. W., Wheeler, H. E.: Genetics of Glomerella. IX. Perithecial development and plasmogamy. Amer. J. Bot. 38, 61o - 617 (1951)

Meinhardt, F.: Untersuchungen zur Genetik des Fortpflanzungsverhaltens und der Fruchtkörper- und Antibiotikabildung des Basidiomyceten Agrocybe aegerita. Dissertation, Bochum, 198o

Meinhardt, F., Esser, K.: Genetic studies of the basidiomycete Agreocybe aegerita. II. Genetic control of fruitbody formation and its practical implications. Theor. Appl. Genet. (in Vorbereitung)

Miyake, H., Tanaka, K., Ishikawa, T.: Basidiospore Formation in monokaryotic fruiting bodies of a mutant strain of Coprinus macrorhizus. Arch. Mikrobiol. 126, 2o7 - 212 (198o)

Moore, D.: Developmental genetics of Coprinus cinereus: Genetic evidence that Carpophores and Sclerotia share a common Pathway of inhibition. Current Genet. 3, 145 - 15o (1981)

Moser, M.: Die künstliche Mykorrhizaimpfung an Forstpflanzen. Forstwiss. Zeitschr. Bd. 2 (Wien) 77, 32 - 4o und 271 - 278 (1958)

Moser, M.: Kleine Kryptogamenflora Band II b/2. Basidiomyceten II-Teil. Die Röhrlinge und Blätterpilze (Agaricales) Fischer Verlag Stuttgart (1967)

Müller, E., Löffler, W.: Mykologie. Georg Thieme Verlag (1971)

Murray, J. C., and Srb, A. M.: The morphology and genetics of wild-type and seven morphological mutant stains of Neurospora crassa. Canad. J. Bot. 4o, 337 - 349 (1962)

Nešvera, J.: Genetic analysis of Chlamydospore-like structures in Schizophyllum commune. Ceska Mycologie 29, 1o5 - 1o9 (1975)

Neuhauser, K. S., Gilbertson, R. L.: Some aspects of bipolar heterothallism in Fomes cajanderi. Mycologia 63, 722 - 735 (1971)

Niederpruem, D. J., Hobbs, H., Henry, L.: Nutritional studies of development in Schizophyllum commune. J. Bacteriol. 88, 1721 - 1729 (1964)

Niederpruem, D. J., Jersild, R. A., Lane, P. L.: Direct microscopic studies of clamp connection formation in growing hyphae of Schizophyllum commune. I. The Dikaryon. Arch. Milrobiol. 78, 268 - 28o (1971)

Nyunoya, H., Ishikawa, T.: Control of unusual hyphal morphology in a mutant of Coprinus macrorhizus. Japan J. Genetics 54, 11 - 2o (1979)

Papazian, H. P.: Physiology of the incompatibility factors in Schizophyllum commune. Bot. Gaz. 112, 143 - 163 (195o)

Papazian, H. P.: The incompatibility factors and related gene in Schizophyllum commune. Genetics, 36, 441 - 459 (1951)

Papazian, H. P.: Genetics of Basidiomycetes. Adv. Genet. 9, 41 - 69 (1958)

Parag, Y.: Genetic investigation into the mode action of the genes controlling selfincompatibility and heterothallism in Basidiomycetes. In: K. Esser, J. R. Raper (edts.): Incompatibility in Fungi, pp. 8o - 98, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1965 a

Parag, Y.: Common-B heterokaryosis and fruiting in Schizo. commune. Mycologia 57, 543 - 561 (1965 b)

Parag, Y., Koltin, Y.: The structure of the incompatibility factors of Schizophyllum commune. Constitution of the class III factors. Molec. Gen. Genet. 112, 43 - 48 (1971)

Perkins, J. H., Raper, J. R.: Morphogenesis in Schizophyllum commune III. A mutation that blocks initiation of fruiting. Molec. Gen. Genet. 1o6, 151 - 154 (197o)

Pinto-Lopes, J., Almeida, M. G.: On the determinism and Biological Significance of sterile fruit bodies, in bifactorial species of Coprinus. Bol. Soc. Brot. 5o, 15 - 61 (1976)

Pontecorvo, C.: The parasexual cycle. Ann. Rev. Microbiol. 1o, 393 - 4oo (1956)

Radu, M., Steinlauf, R., Koltin, Y.: Meiosis in Schizophyllum commune: chromosomal behaviour and the synaptinemal complex. Arch. Microbiol. 98, 3o1 - 31o (1974)

Raju, M. B., Perkins, D. D.: Barren perithecia in Neurospora crassa. Canad. J. Genet. Cytol. 2o, 41 - 59 (1978)

Raper, C. A.: Control of development by the incompatibility system in Basidiomycetes. In: Schwalb, M. N., Miles, P. G. (eds.): Genetics and Morphogenesis in the Basidiomycetes. Acad. Press. New York London pp. 3 - 29 (1978)

Raper, C. A., Raper, J. R.: Mutational analysis of a regulatory gene for morphogenesis in Schizophyllum commune. Proc. Nat. Sci. USA 7o, 1427 - 1431 (1973)

Raper, J. R.: Genetics of Sexuality of higher fungi. New York. Ronald Press 1966

Raper, J. R., Baxter, M. G., Ellingboe, A. H.: The genetic structure of the incompatibility factors of Schizophyllum commune. The A factor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 46, 833 - 842 (196o)

Raper, J. R., Esser, K.: The Fungi. In: J. Brachet, A. E. Mirsky (eds.): The cell Vol. VI, 139 - 244, New York 1964

Raper, J. R., Flexer, A. S.: The road to diploidy with emphasis on a detour. Symposia of the society for general microbilogy 2o, 4o1 - 433 (197o)

Raper, J. R., Hoffman , R.: Schizophyllum commune. In: Handbook of Genetics, Vol. 1, (R. C. King, ed.), pp. 597 - 626 Plenum Press, New York-London 1974

Raper, J. R., Krongelb, G. S.: Genetic and environmental aspects of fruiting in Schizophyllum commune. Mycologia 5o, 7o7 - 74o (1958)

Raper, J. R., Miles, P. G.: The genetics of Schizophyllum commune. 43, 53o - 546 (1958)

Rehm, H.-J.: Industrielle Mikrobiologie 2. Aufl. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (198o)

Riegman, R., Wessels, J. G. H.: Nucelar inheritance of plaques in Schizophyllum commune. Trans. Br. mycol. Soc. 75, 325 - 327 (198o)

Roper, J. A.: Mechanisms of Inheritance: The parasexual cycle. In: G. C. Ainworth, A. S. Sussman: The Fungi. Vol. 2, pp. 589 - 617, Acad. Press, New York 1966

Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1969

Schlegel, H. G.: Allgemeine Mikrobiologie. 4. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1976)

Schwalb, M. N.: Effect of adenosin 3', 5'-cyclic monophosphale on the morphogenesis of fruitbodies of Schizophyllum commune. Arch. Microbiol. 96, 17 - 2o (1974)

Schwalb, M. N., Miles, P. G.: Morphogenesis of Schizophyllum commune. I. Morphological variation and mating behavior of the thin mutation. Amer. J. Bot. 54, 44o - 446 (1967)

Schwalb, M. N., Miles, P. G.: Genetics and Morphogenesis in the Basidiomycetes. Academic Press Inc. Ltd. New York, San Francisco - London 1978

Scott, W. A.: Biochemical genetics of morphogenesis in Neurospora. Ann. Rev. Microbiol. 3o, 85 - 1o4 (1976)

Simonet, J. M., Zickler, D.: Genes involved in Caryogamy and meiosis in Podospora anserina. Molec. Gen. Genet. 162, 237 - 242 (1978)

Singleton, P., Sainsbury, D.: Dictionary of Microbiology. John Wiley & Sons Ltd.: New York, London 1978

Smith, A. H.: Investigations of two-spored forms in the genus Mycena Mycologia 26, 3o5 - 331 (1934)

Stahl, U.: Genetische Regulation der Fruchtkörperbildung bei höheren Basidiomyceten; monokaryotisches Fruchten bei Polyporus ciliatus. Dissertation, Bochum, 1975

Stahl, U., Esser, K.: Genetics of fruit body production in higher basidiomycetes. I. Monokaryotic fruiting and its correlation with dikaryotic fruiting in Polyporus ciliatus. Molec. Gen. Genet. 148, 183 - 197 (1976)

Stamberg, J., Koltin, Y.: Genetic control of recombination in Schizophyllum commune. evidence for a new type of regulatory site. Genet. Res. Camb. 22, 1o1 - 111 (1973 a)

Takemaru, T., Kamada, T.: Basidiocarp development in Coprinus macrorhizus. I. Induction of developmental variations. Bot. Mag. (Tokyo) 85, 51 - 57 (1972)

Talbot, P. H. B.: Aphyllophorales I. In: The Fungi, vol. IV b (G. C. Ainworth, F. K. Sparrow, A. S. Sussman, eds.), pp. 327 - 349, Acad. Press, New York-London 1973

Tzean, S., S., Esty, R. H.: Schizophyllum commune. Fr. as a destructive mycoparasite Can. J. Microbiol. 24, 78o - 784 (1978)

Ullrich, R. C.: Sexuality, incompatibility, and intersterility in the biology of the Sistotrema brinkmannii aggregale. Mycologia 65, 1234 - 1249 (1973)

Ullrich, R. C.: Natural distribution of incompatibility factors in Basidiomyceteous fungi. Mycologia 69, 714 - 719 (1977)

Ullrich, R. C.: On the regulation of gene expression: Incompatibility in Schizophyllum. Genetics 88, 7o9 - 722 (1978)

Ullrich, R. C., Raper, J. R.: Number and distribution of bipolar incompatibility factors in Sistotrema brinkmannii. Am. Naturalist 1o8: 5o7 - 518 (1974)

Uno, I., Ishikawa, T.: Chemical and genetical control of induction of monokaryotic fruiting bodies in Coprinus macrorhizus. Molec. Gen. Genet. 113, 228 - 239 (1971)

Uno, I., Ishikawa, T.: Purification and identification of the fruiting inducing substances in Coprinus macrorhizus. J. Bacteriol. 113, 124o - 1248 (1973 a)

Uno, I., Ishikawa, T.: Metabolism of adenosin 3', 5'-cyclic monophosphate and induction of fruiting bodies in Coprinus macrorhizus. J. Bacteriol. 113, 1249 - 1255 (1973 b)

Uno, I., Ishikawa, T.: Effect of glucose on the fruiting body formation and adenosin 3', 5'-cyclic monophosphate levels in Coprinus macrorhizus. J. Bacteriol. 12o, 96 - 1oo (1974)

Uno, I., Yamaguchi, M., Ishikawa, T.: The effect of light on fruit body formation and adenosin 3',5'- cyclic monophosphate metabolism in Coprinus macrorhizus . Proc.Acad.Sc.USA 71, 479 - 483 (1974)

Von ARX, J. A.: Pilzkunde. Verlag J. Cramer, Lehre (1968)

Vorderberg, K.: Zur Fruchtkörperbildung von Coprinus Lagopus. Planta 37, 149 - 16o (1949)

Wakefield, E. M.: Über die Bedingungen der Fruchtkörperbildung sowie Auftreten fertiler und steriler Stämme bei Hymenomyceten. Naturw. z. Forst.- u. Landwirtschaft 7, 521 - 551 (19o9)

Walting, R., Sweeney, J.: Observations on Schizophyllum commune. Fries Sabouraudia 12, 214 - 226 (1971)

Webster, J.: An introduction to fungi. University Press, Cambridge, 197o

Wheeler, H. E.: Genetics and Evolution of heterothallism in Glomerella. Phytopathology 44, 342 - 345 (1954 a)

Wheeler, H. E., Mc Gahen, J. W.: Genetics of Glomerella. X. Genes affecting sexual reproduction. Am. J. Bot. 39, 11o - 119 (1952)

Zattler, F.: Vererbungsstudien an Hutpilzen (Basidiomyceten) Zeitschr. f. Bot. 16, 433 - 499 (1924)

H ANHANG

I. Veröffentlichungen

Esser, K., Saleh, F., and Meinhardt, F.:
Genetics of fruit body production in higher Basidiomycetes. II. Monokaryotic and dikaryotic fruiting in Schizophyllum commune.
Current Genetics 1, 85 - 88 (1979)

II. Lebenslauf

19. Febr. 1947	geboren in Kairo/Ägypten als Sohn von Mohamed Saleh und Wagieda (geb. Nassif)
1953 - 1957	Besuch der Volksschule in Fakoos/ Prov. El-Sharkea
1957 - 1961	Besuch der Mittelschule in Fakoos/ Prov. El-Sharkea
1961 - 1964	Besuch der Oberschule in Fakoos/ Prov. El-Sharkea
1964	Reifezeugnis
1964 - 1968	Studium an der Fakultät für Landwirtschaft der Universität Alexandria/Ägypten
1968	Erlangung des akademischen Grades "Bachelor of Science" (B. Sc.) im Fachbereich Genetik
1969 - 1976	Wissenschaftlicher Assistent in der Fakultät für Landwirtschaft, Abteilung Genetik an der Assiut Universität, gleichzeitig Hauptstudium zur Erlangung des akademischen Grades "Master of Science" (M. Sc.)
1974	Erlangung des akademischen Grades "Master of Science" (M. Sc.) im Fachbereich Genetik

1976	Erhalt eines DAAD Promotions-stipendiums
April 1976-Sept. 1976	Deutscher Sprachkurs am Goethe Institut (Freiburg)
198o	Eheschließung mit Sabah, geb. El-Gabarty
1981	Geburt unseres Sohnes Maged
Seit Okt. 1976	Anfertigung der Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. K. Esser, Inhaber des Lehrstuhls für Allgemeine Botanik der Ruhr-Universität Bochum

DER DRUCKER - (Alte) Buscheystraße 138 - 4630 Bochum-Querenburg